UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

ZEITSCHRIFT

FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND

VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN · G. MELCHERS
F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

83. BAND 5. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 64 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 17. FEBRUAR 1951)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

SPRINGER-VERLAG

1951

Z. Vererbungslehre

Preis DMark 19.80

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften. Der Band umfaßt etwa 40—50 Druckbogen.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Professor Dr. Hans Bauer, (23) *Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,*

Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,

Professor Dr. Alfred Kühn, (14b) *Hechingen, Max-Planck-Institut für Biologie, oder Tübingen, Zoologisches Institut, Hölderlinstraße 12,*

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,*

Professor Dr. Friedrich Oehlkers, (17b) *Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9-11,*

Professor Dr. Klaus Pätau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,

Professor Dr. Hans Stubbe, (19b) *Gatersleben (Bezirk Dessau), Institut für Kulturpflanzenforschung.*

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig innerhalb dieses Zeitraumes zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DMark 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 1,*

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,*

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:
C. Melchers
H. Stubbe

Springer-Verlag.
Heidelberg
Berlin-Charlottenburg 2

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange Maxwell & Springer Ltd., 41—45 Neal Street, London W. C. 2

Inhaltsverzeichnis auf Seite III

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 447—478 (1951).

Aus der Außenstelle Wien des „Instituts für Kulturpflanzenforschung" in Gatersleben.

CYTOMORPHOLOGISCHE STUDIEN AN STRAHLENINDUZIERTEN, KONSTANT ABWEICHENDEN PLASTIDENFORMEN BEI FARNPROTHALLIEN*, **.

Von

ROLAND MALY.

Mit 49 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Oktober 1950.)

I. Einleitung.

Die vorliegende Mitteilung stellt ein in sich abgeschlossenes Teilergebnis von Untersuchungen dar, die im Rahmen von Versuchen zur Auslösung nichtmendelnder Mutationen an Farnen im Jahre 1947 begonnen wurden.

Es wird eine Anzahl von Änderungen der Plastidenform, -struktur und Anordnung der Plastiden in der Zelle beschrieben, die nach Bestrahlung der Sporen im Gametophyten aufgetreten sind und die sich bei fortgesetzter vegetativer Vermehrung in umfangreichen Klonkulturen in vielen Fällen schon über 3 Jahre konstant gehalten haben.

Über Form- und Strukturänderungen der Plastiden unter dem Einfluß von Strahlungen und chemischen Mitteln liegt eine Anzahl von Untersuchungen vor (BAUER 1942, BIEBL 1936, 1940, 1947, DANGEARD 1941, KÜSTER 1937, LÄRZ 1942). GRATZY-WARDENEGG (1931) beschrieb Degenerationserscheinungen der Chloroplasten an Farnprothallien. In all den beschriebenen Fällen handelt es sich jedoch entweder um reversible Änderungen der Plastidenform und -struktur oder um Erscheinungen, die mit einer letalen Schädigung der Zellen verbunden waren. — Durch Anwendung von Methoden, wie sie in der experimentellen Mutationsforschung üblich sind, erhielt KNUDSON (1940), auf dessen Ergebnisse noch öfters zurückzukommen sein wird, bei *Polypodium aureum* eine Anzahl von Prothallien mit kennzeichnenden Änderungen der Plastiden, die sich konstant erwiesen. DÖPP (1936) und ROTTMANN (1939) sahen in ihren Mutationsversuchen an verschiedenen Polypodiaceen Prothallien mit blassen Plastiden und auch solche, deren Zellen mit Chloroplasten überfüllt waren und dunkelgrün erschienen. Schließlich wäre noch eine kurze Mitteilung HRUBYS (1935) zu erwähnen, der Sporen von *Equisetum* mit Röntgenstrahlen behandelte und einige Tage nach der Aussaat in manchen Prothallien amöboide Riesenplastiden beobachtete. Ob sich diese Riesenplastiden konstant gehalten haben, geht aus der Arbeit nicht hervor.

II. Material und Methode.

Auf Grund verschiedener Vorversuche wurde schließlich *Polypodium aureum*, das auch KNUDSON verwendete, für die umfangreichen Mutationsversuche gewählt. Leichte Reingewinnung großen Sporenmaterials, Haploidie der Gametophytengeneration, sexuelle Fortpflanzung, Kleinheit der Sporen und die dünne, transparente Beschaffenheit der Exine waren maßgebende Gesichtspunkte bei der Auswahl des Objektes. Das Sporenmaterial stammt ausschließlich von einer Pflanze im Gewächshaus der Höheren Bundeslehr- und Versuchsanstalt in Klosterneuburg.

* Die Versuche wurden in dem Laboratorium der Abteilung Botanik der Höheren Bundeslehr- und Versuchsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Klosterneuburg bei Wien durchgeführt. Der Verfasser dankt auch an dieser Stelle bestens dem Direktor der genannten Anstalt, Herrn Prof. Ing. E. PLANCKH und der Leiterin der Abteilung Botanik, Frau Dr. G. KRAUS, für das stete Entgegenkommen und den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz.

** Als Dissertation von der Philosophischen Fakultät der Universität Wien angenommen.

Zur Prüfung der genetischen Homogenität des Sporenmaterials konnten keine Tetradenanalysen vorgenommen werden. Vielfache Sporangienanalysen zeigten jedoch, daß es sich um homogenes Material handelte. Die Chromosomenzahl wurde an verschiedenen Prothallien von Kontrollkulturen — in Übereinstimmung zu HEILBRONNS Angabe (1928) — zu n = 16 bestimmt.

In den Versuchen IV und V wurden Röntgenstrahlen zur Einwirkung gebracht (Siemens-Nahbestrahlungsanlage, 60 kV Gleich, 4 mA; Eigenfilter 0,15—0,20 Cu-Gleichwert, Fokusabstand 1,5 cm; Dosisleistung 1350 r/min), beim Versuch IX γ-Strahlen vom Radium (4,48 r/min, Expositionszeit 32 Std, nähere Angaben über Bestrahlungsanordnung bei MAIER und MALY 1950) und schließlich beim Versuch VII das Gesamtspektrum einer Analysen-Quarzlampe (Analysen-Quarzlampe, Original Hanau, Brenner S 500, ohne Filter, mit Reflektor, Brenner-Objektabstand 1 m).

Die Sporen wurden bei den Versuchen IV, V und VII 40 Std vor Bestrahlungsbeginn, beim Versuch IX 24 Std vor Bestrahlungsbeginn entweder in sterilisiertes Leitungswasser (mit Signum F bezeichnet) oder in den Exsikkator gebracht (Signum T). Die Sporen für die Kontrollversuche waren jeweils den gleichen Bedingungen wie die zu bestrahlenden Sporen ausgesetzt, nur im Bestrahlungsraum waren sie strahlengeschützt aufgestellt. Die angewandten Strahlungsdosen sind aus Tabelle 1 zu ersehen.

Nach der Bestrahlung wurden die Sporen auf 1%igen Bennecke-Agar in Petri-Schalen ausgestrichen. Die Kulturen waren stets sonnengeschützt in einem Laboratoriumsraum mit nordseitigen Fenstern aufgestellt. Die Schalen wurden täglich untereinander verschoben, um eventuelle geringe Standortsverschiedenheiten auszugleichen.

Bei allen Versuchen wurde 10—12 Wochen nach der Aussaat die Anzahl der gekeimten Sporen ausgezählt. Bei den Versuchen IV, VII und IX wurden jeweils 3 Monate nach Beginn des Versuches aus den Kulturen unter dem Stereo- Mikroskop von REICHERT (Obj. 6mal, Okul. 12mal) Prothallien mit abnormen Plastiden isoliert und von jedem isolierten Prothallium eine Klonkultur (ebenfalls auf Agar) angelegt. Im Versuch V konnte aus äußeren Gründen erst im 5. und 6. Monat nach der Aussaat der Sporen mit der Durchsicht auf Abweicher begonnen werden. Der neutrale Ausdruck Abweicher wird in dieser Arbeit gebraucht, da bisher durch Kreuzungsanalyse die Erblichkeit der einzelnen Plastidenformen nicht geprüft werden konnte.

Es ist einleuchtend, daß bei dieser Versuchstechnik nicht steril gearbeitet werden konnte. Pilze traten wohl immer wieder auf frischen Nährböden auf, hielten sich aber nie lange. Eine Anzahl von isolierten Prothallien erwies sich als zu schwach, stellten bald ihr Wachstum ein und gingen zugrunde. Das trifft insbesonders für die im folgenden Teil der Arbeit beschriebenen Typen *12*, *13* und *14* zu.

Die genaue Untersuchung der Plastiden bei den einzelnen Typen erfolgte an lebendem Material bei 900facher (Obj. 60mal, Okul. 10mal, Schrägtubusfaktor 1,5mal) und bei 2400facher Vergrößerung (Immers. 100mal, Komp. Okul. 16mal, Schrägtubusfaktor 1,5mal). Photographiert wurde mit Leica auf einem improvisierten Aufsatzgerät bei 300- bzw. 738facher Vergrößerung und nachträglich auf die in den Bildbeschriftungen angeführten Maßstäbe vergrößert. Einige ältere Aufnahmen sind mit Zeiß-Miflex aufgenommen worden.

III. Die Häufigkeit der Abweicher bei den einzelnen Versuchen.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über den Umfang des bearbeiteten Materials. Bei der Isolierung der Abweicher konnten am eindeutigsten die im nächsten Abschnitt unter den Nummern *01—12* und *15—20* beschriebenen Typen erfaßt werden. Für die Tabelle wurden nur solche Klone der Typen *01—12* und *15—20* ausgewertet, die am Stichtag, den 1. 3. 50, lebten und vollkommen den ihrem Typ gegebenen Beschreibungen entsprachen. Aus äußeren Gründen mußten nach dem 1. 3. 50 die Kulturen eingeengt werden und es wurden von den sehr zahlreich vorhandenen Klonen der Typen *01* und *13* ein erheblicher Teil der Klone verworfen. Die verbliebenen Klone dieser Typen sowie alle anderen zeigen noch immer die für sie charakteristischen Merkmale. Daraus folgt, daß sich die Pro-

thallienklone vom Versuch IV durch 3 Jahre, die vom Versuch V durch $2^1/_2$ Jahre, die vom Versuch VII $1^3/_4$ Jahr und schließlich die vom Versuch IX über $1^1/_2$ Jahre bei fortgesetzter vegetativer Vermehrung bezüglich ihrer abnormen Plastidenphäne konstant gehalten haben.

Zu den angeführten Abweicherraten muß bemerkt werden, daß die Werte vom Versuch V mit denen der anderen Versuche nicht streng vergleichbar und ungenau sind. Die Isolierung wurde — wie schon bemerkt — erst im 5. und 6. Monat nach der Aussaat der Sporen vorgenommen. Zu dieser Zeit hatten jedoch schon die meisten Prothallien mehrere und große Adventivprothallien gebildet, die sich oft vom Stammprothallium losgelöst hatten. Dadurch entstand bei der Isolierung der Abweicher eine Fehlerquelle, indem losgelöste Adventivprothallien auch als selbständige Abweicher gewertet wurden. Diese Fehlerquelle war jedoch bei allen anderen Versuchen ausgeschaltet.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Spontanrate (bei den Kontrollen) für Prothallien mit abnormen Plastiden sehr gering ist. Dennoch wird man die Angabe Knudsons, bei Prüfung einiger Millionen (!!) unbestrahlter Prothallien keine abweichenden Plastidentypen gefunden zu haben, sehr mit Reserven aufnehmen müssen. Das gleiche gilt für die Behauptung dieses Forschers, daß bei Trockenbestrahlung von Sporen nur Röntgendosen von 30000 r aufwärts imstande wären, Plastidenänderungen hervorzurufen.

Ferner ist aus der Tabelle zu ersehen, daß Bestrahlung vorgequollener Sporen (mit F bezeichnet) höhere Abweicherraten liefert als Bestrahlung trockener Sporen (T). Das steht vollkommen im Einklang mit den Ergebnissen verschiedener Autoren über die Abhängigkeit der Wirkung ionisierender Strahlungen vom Quellungszustand oder — allgemeiner ausgedrückt — von der Aktionsbereitschaft der

Tabelle 1. *Abweicherhäufigkeiten (berechnet nach dem Stand vom 1. 3. 50) für die Abweichertypen 01—12 und 15—20.*

Versuch (Beginn)	Strahlung	Dosis	Bezeichnung	Gekeimte Sporen	Abweicher	Prozent
IV	Röntgen	5000 r	RT	18177	14	0,077
(September	Röntgen	5000 r	RF	27463	40	0,145
1947)	Kontrolle		KT	18485	2	0,0108
	Kontrolle		KF	18060	2	0,011
V	Röntgen	5000 r	RT D_1	12853	14	0,109
(März	Röntgen	10000 r	RT D_2	13325	14	0,105
1948)	Röntgen	15000 r	RT D_3	4895	15	0,307
	Röntgen	5000 r	RF D_1	1165	8	0,69
	Röntgen	10000 r	RF D_2	4814	27	0,56
	Röntgen	15000 r	RF D_3	2053	7	0,34
IX	γ + F[1]	8600 r + F[1]	A	8601	20	0,232
(Februar	γ	8600 r	B	7977	18	0,226
1949)	Kontrolle		K	1727	0	—
VII	UV	30 min	F_1	5192	4	0,077
(Dezember	UV	30 min	T_1	6531	4	0,061
1948)	UV	15 min	F_2	6607	13	0,197
	UV	15 min	T_2	5477	0	—
	Kontrolle		K	2924	0	—

[1] Die Bezeichnung F bei der Angabe der Strahlung und Dosis bedeutet im Falle des Versuches IX, daß bei dieser einen Art der Bestrahlung neben den γ-Strahlen vom Radium durch eine besondere Versuchsanordnung auch die von den γ-Strahlen im Wasser erregte Fluoreszenzstrahlung an den Sporen zur Einwirkung gelangte (H. Maier, 1949, Maier und Maly, 1950).

Objekte (GUSTAFSSON 1936, KAPLAN 1939, KNAPP und KAPLAN 1942). Das Absinken der Abweicherraten in Versuch V und VII bei steigenden Dosen bei Feuchtbestrahlung kann zwanglos dadurch erklärt werden, daß die Vitalität mutierter Sporen nach Einwirkung stark schädigender Dosen bedeutend herabgesetzt ist und diese daher gar nicht in Erscheinung treten können. (Über Keimlingssterblichkeit nach γ-Strahleneinwirkung auf gequollene Sporen s. MAIER und MALY 1950.)

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß den Abweicherraten nur eine engbegrenzte Gruppe von konstanten Abänderungen des Phänotyps zugrunde liegt, ist zu ersehen, daß die beobachteten Raten durchaus im Häufigkeitsbereich von Genmutationen liegen.

Es sei hier vorweggenommen, daß in den Versuchen mit UV-Licht (Versuch VII) im allgemeinen dieselben Typen von Abweichern aufgetreten sind wie in den Versuchen mit ionisierenden Strahlungen.

IV. Morphologisch-entwicklungsgeschichtliche Beschreibung der Abweichertypen.

Wie schon im Abschnitt Methodik bemerkt wurde, wurden von den isolierten Prothallien mit abnormen Plastiden Klonkulturen angelegt. An mehreren Proben jeder Klonkultur wurden von Zeit zu Zeit eingehende mikroskopische Untersuchungen im lebenden Zustand vorgenommen.

In dem verständlichen Bestreben, Ordnung in die gefundene Mannigfaltigkeit der Erscheinungen zu bringen, wurden die Abweicherklone, deren Plastiden in verschiedenen Stadien der Entwicklung Ähnlichkeiten zeigten, zu bestimmten Gruppen (Typen) zusammengefaßt. Schließlich konnten 20 kennzeichnende Typen unterschieden werden, die im folgenden mit *01—20* bezeichnet sind. Besser als jede Beschreibung vermitteln die beigegebenen Photographien eine Vorstellung von der Mannigfaltigkeit der erhaltenen Plastidenformen.

KNUDSON, der ähnliche Versuche am gleichen Objekt durchgeführt hatte, veröffentlichte in seiner Arbeit zu den von ihm beschriebenen 10 abweichenden Typen eine Anzahl von Abbildungen, die den Vergleich mit den hier beschriebenen Abweichertypen sehr erleichtern. Es wird daher bei solchen Typen, die auch KNUDSON erhalten hatte, auf die jeweilig entsprechende Gruppe in seiner Arbeit (die mit A—K bezeichnet sind) hingewiesen werden.

Im Anschluß an die Beschreibung eines jeden Typs sind als Belege die Protokollnummern der Klone angeführt. Die römischen Zahlen bezeichnen den Versuch, aus dem das Klon gewonnen wurde, die ersten 2 Stellen der 4stelligen Zahl geben den Abweichertyp an und die letzten 2 Stellen die laufende Nummer des Klons innerhalb des betreffenden Typs und Versuches.

00 Normale Plastiden, von etwa 3—7μ schwankend, meist mit einem oder wenigen Stärkekörnern. In jungen Zellen $\pm$ rundlich, in älteren Zellen gegenseitig abgeplattet und die Oberfläche der Zelle ausfüllend. Nur bei Beobachtung mit stärkster Optik läßt sich gelegentlich die Granastruktur erkennen, sonst erscheinen die Plastiden homogen. Entspricht KNUDSONS Typ A. Siehe Abb. 1 und 2.

01 Große Plastiden. Die Plastiden dieses Typs unterscheiden sich von den normalen nur durch ihre größeren Dimensionen, der größeren Anzahl von Stärkekörnern je Plastide und der Größe der Stärkekörner. In alten Zellen sind — wenn auch selten — Plastidenformen anzutreffen, die auf Teilungshemmung und

gelegentlich auch Fusion benachbarter Plastiden schließen lassen. Häufigster Abweichertyp — auch in KNUDSONS Versuchen (Typ H). Siehe Abb. 3.

Belege: IV 0101—0105 (aus Kontrollkulturen), 0106—0122; V 0101—0176; VII 0101 bis 0108; IX 0101—0111.

02 Die Plastiden sind etwas dünner als die normalen. In jüngeren Zellen trifft man ganz unregelmäßig geformte Plastiden an, die sehr häufig untereinander

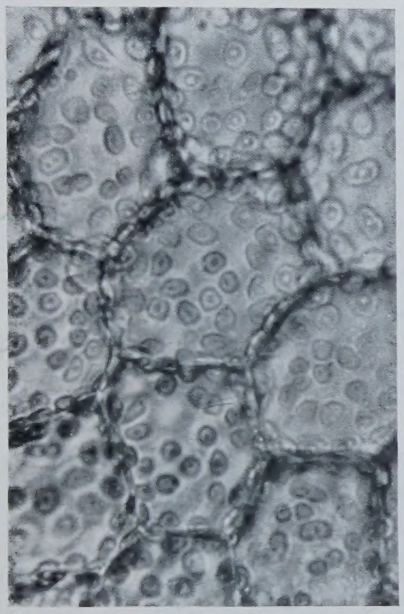


Abb. 1.

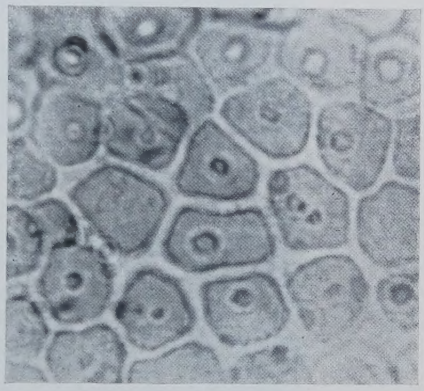


Abb. 2.

Abb. 1 u. 2. Normale Plastiden. Abb. 1: jüngere Zellen; Vergr. 685mal[1]. Abb. 2: ältere Zelle; Vergr. 1680mal.

durch dünne zartgrüne Fäden verbunden sind. Die bizarren Formen und Verbindungsfäden unter den Plastiden zeigen an, daß die Oberflächenspannung offenbar sehr gering ist und beim Plastidenwachstum die eintretenden Teilungen meist nicht vollkommen durchgeführt werden. In Zellen mittleren Alters — so vor allem in den mächtig entwickelten Seitenlappen der Prothallien, aber auch am meristematischen Rücken — kommt es durch Fusion zur Bildung großer, dünner Plastidenplatten. Im Extremfall kann eine einzige Plastidenplatte die ganze Zelloberfläche auskleiden. Die Plastiden führen eine große Anzahl von Stärkekörnern, die auch in den dünnen Verbindungsfäden vorkommen. In alten Zellen „zerteilen" sich die Plastidenplatten wieder in mehrere Einzelplastiden, die jedoch noch immer Verbindungsfäden untereinander aufweisen und sich nur selten abrunden. Aus einem Vergleich der Abbildungen mit denen normaler Plastiden ist leicht zu ersehen, daß die Plastiden dieses Typs wesentlich mehr Stärkekörner je Flächeneinheit

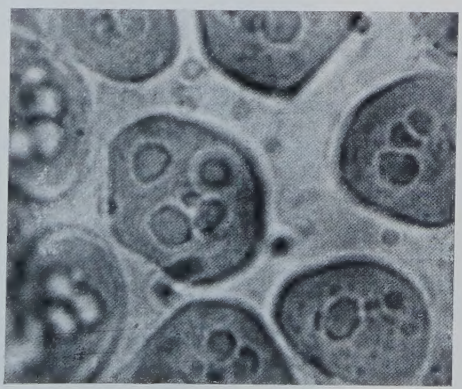


Abb. 3. IV 0106, ältere Zelle; Vergr. 1680mal.

[1] Wenn nicht besonders angeführt, beträgt die Vergrößerung bei allen Abbildungen 685mal.

produzieren als die normalen. Bisher konnte an den Plastiden dieses Typs keine auch noch so feine Granastruktur wahrgenommen werden; das gilt auch für die meist stärkefreien Auszüge und Verbindungsfäden. Sieben verschiedene Klone

Abb. 4.

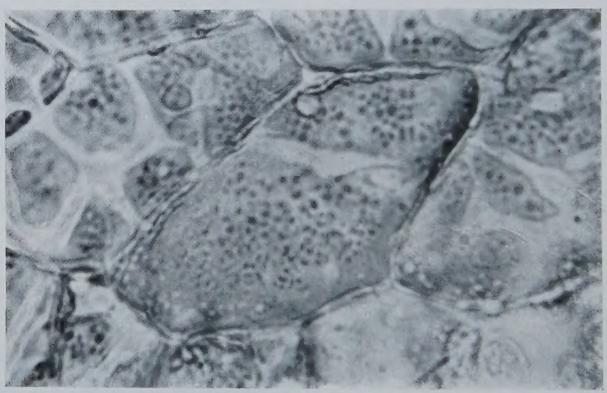


Abb. 5.

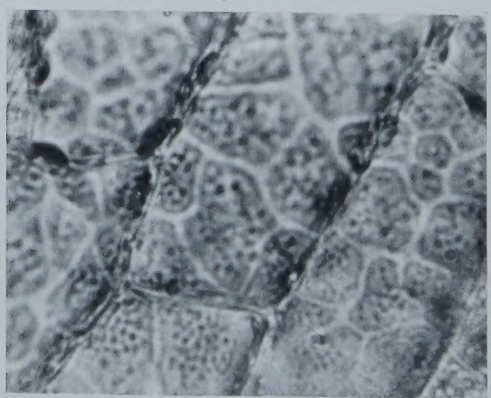


Abb. 6.

Abb. 4—6. IV 0201. Abb. 4: ältere Zelle. Abb. 5 u. 6: Zellen aus dem Mittelteil des Prothalliums.

wurden in diesem Typ zusammengefaßt, die in allen wesentlichen Belangen der gegebenen Beschreibung entsprechen. Klon V 0201 zeigt zudem die Plastidenverbindungen durch dünne Fäden in jungen Zellen noch ausgeprägter als die

anderen Klone, indem fast alle Plastiden einer Zelle untereinander kettenförmig verbunden sind. Bei VII 0201 kommen plattenförmige Fusionen schon in jungen

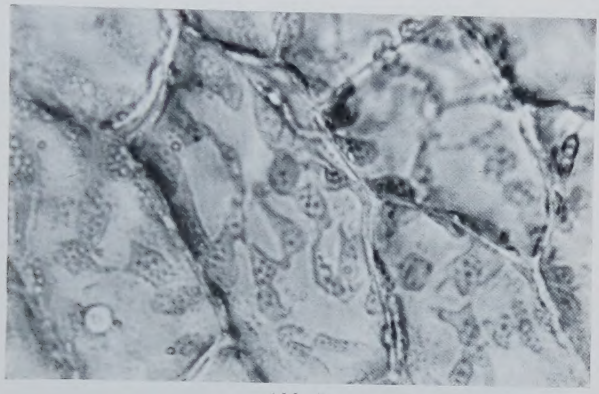


Abb. 7.

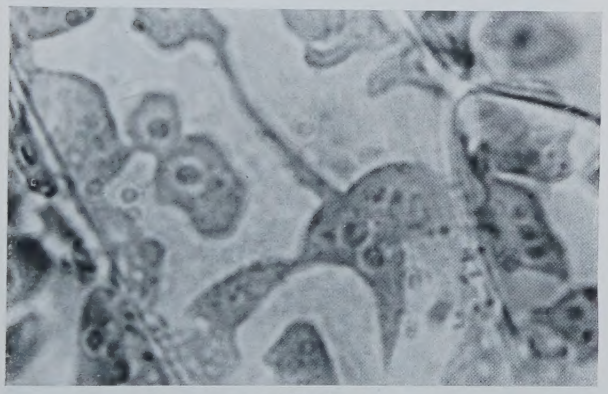


Abb. 8.

Abb. 7 u. 8. V 0201. Abb. 7: jüngere Zellen. Abb. 8: etwas ältere Zelle, Vergr. 1680mal.

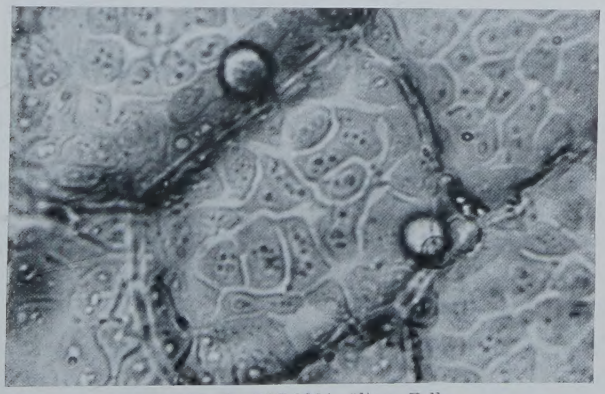


Abb. 9. VII 0201, ältere Zelle.

Zellen vor, und schließlich bei VII 0202 sind in ganz jungen Zellen die Plastiden — bei spindeligen Einzelformen — kettenförmig durch die Zelle ausgespannt. Siehe die Abb. 4—9.

Belege: IV 0201, V 0201, VII 0201, 0202, IX 0201—0203.

03 Wachstum der Prothallien sehr unregelmäßig, meist in Fäden auswachsend, flächiges Wachstum nur unter besten Bedingungen und immer erst nach einer Zeit fädigen Wachstums. Plastiden in jungen Zellen dick-amorph, untereinander oft verbunden, die Zelle auskleidend. In älteren Zellen gehen die Plastiden zu großen plattenförmigen Formen über, durch Fusion nimmt oft eine einzige Platte die Zelloberfläche ein (ähnlich dem Typ *02*). Stärke ist in normaler Ausbildung

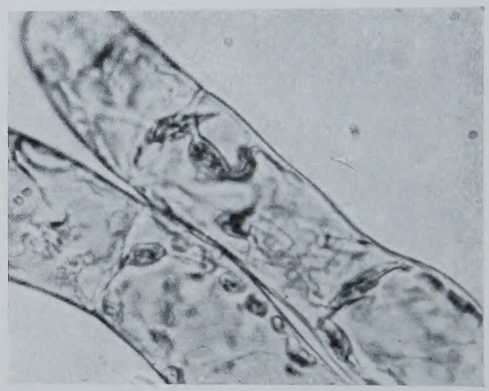


Abb. 10.

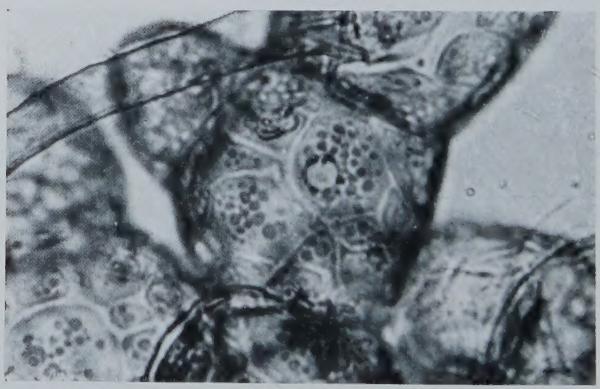


Abb. 11.

Abb. 10 u. 11. IV 0301. Abb. 10: Spitzenzelle der Fäden. Abb. 11: ältere Zellen.

und Größe vorhanden. Kleinere Vakuolen kommen in den Plastidenplatten nicht selten vor. Granastruktur ist sowohl bei den amorphen wie bei den plattenförmigen Plastiden bei Anwendung von Blaufiltern gut zu beobachten. Siehe Abb. 10 und 11.

Beleg: IV 0301.

04 Wuchs ähnlich dem von Typ *03*. In jungen fadenförmigen Teilen sind die Plastiden grob schollig bis kugelig, bedeutend größer als normal, zuweilen führen sie übergroße Stärkekörner. In Zellen flächiger Prothallienteile kommen kleine Plastidenplatten vor, die sehr stärkereich, aber pigmentarm-hellgrün erscheinen und oft durch dünne Stränge von Plastidensubstanz miteinander verbunden sind. In stärkereichen Plastiden sind die Grana kaum ausnehmbar. Siehe Abb. 12—14.

Belege: IV 0401, VII 0401.

05 Wuchs der Prothallien normal flächig. Plastiden stets größer als normal, kugelige Formen vorherrschend, kräftig grün, relativ wenig Plastiden je Zelle;

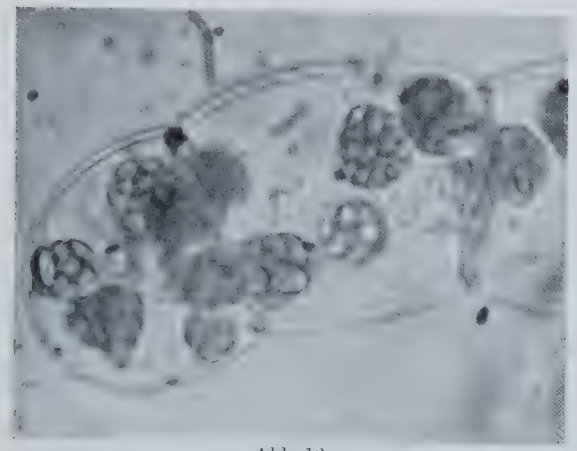


Abb. 12.

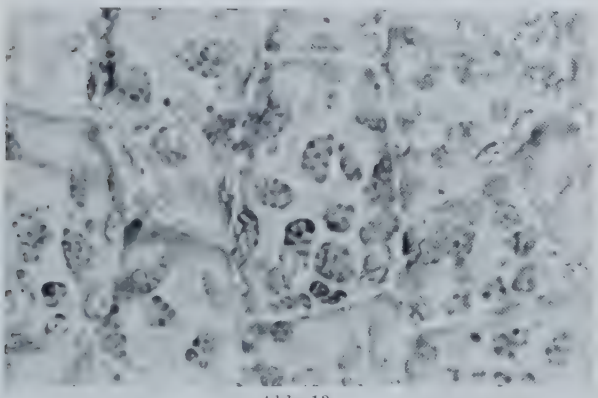


Abb. 13.

Abb. 14.

Abb. 12—14. IV 0401. Abb. 12: Spitzenzellen, fädiges Stück, Vergr. 930mal. Abb. 13: flächiges Stück. Abb. 14: flächiges Stück, Vergr. 1680mal.

reichliche Stärkebildung, durch die die Plastiden oft buckelig strukturiert erscheinen. Besonders in den Sommermonaten sind in allen Teilen des Prothalliums

häufig Fusionen zu großen amöboiden Formen zu beobachten — ähnlich wie sie bei Typ *07* abgebildet sind —, während Fusionen sonst auf ältere Zellen an der Peripherie der Prothallien beschränkt und selten sind. Die nicht amöboiden Plastiden sind stets wesentlich größer als die abgeschnürten Einzelplastiden vom Typ *07* und in entsprechend geringer Anzahl je Zelle vorhanden. Siehe Abb. 15 und 16.

Belege: IV 0501, 0502.

06 Die Prothallien dieses Abweichertyps sind durch sehr unregelmäßiges, vorwiegend fadenförmiges Wachstum gekennzeichnet. Die Plastiden bekommen

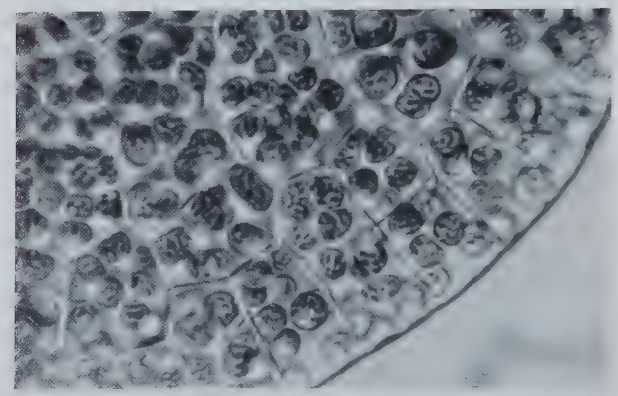


Abb. 15. IV 0501, meristematische Zellen.

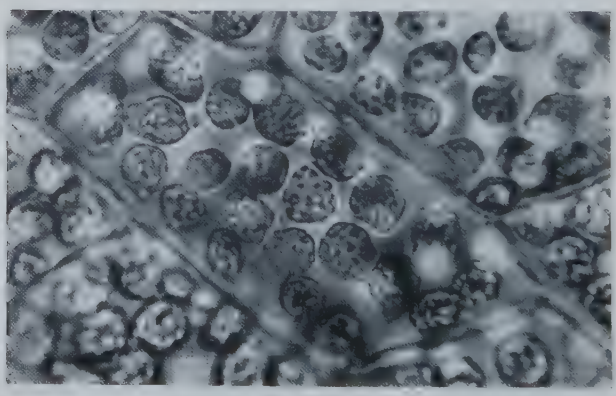


Abb. 16. IV 0502, alte Zellen.

durch ihre zahlreichen, großen Stärkekörner ihr charakteristisches, grob-buckliges Aussehen. Die Plastiden sind bedeutend größer als normal (etwa wie Typ *05*), meist kugelförmig, selten dicke Schollen darstellend. Die Anzahl der Plastiden je Zelle ist meist geringer als beim Typ *05*. Besonders in den Spitzenzellen fadenförmiger Prothallienteile sind ganz abnorm große und dicke Klumpen von Plastidenmasse mit vielen groben Stärkekörnern zu finden. Bei stärkearmen Plastiden tritt die Granastruktur deutlich hervor. In älteren Zellen kommt es — wenn auch sehr selten — zu Fusionen zu ± plättchenartigen Plastidenformen. Plastidenbilder wie auf Abb. 16 vom Typ *05* sind sehr häufig. Siehe Abb. 17.

Belege: IV 0601—0605, IX 0601.

07 Prothallien mit normalem, flächigem Wachstum. In den jüngeren und peripheren Prothallienteilen finden sich stets vielgestaltige, amöboide riesige Plastiden neben kleineren, ± kugelig abgerundeten Formen. In den älteren Zellen überwiegen die abgerundeten Plastiden, die nur etwas größer als die normalen sind.

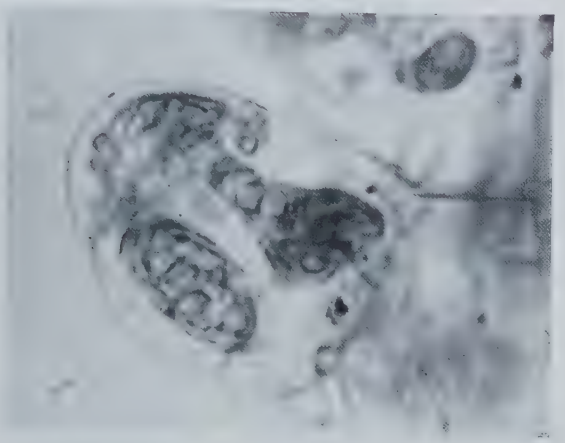


Abb. 17. Spitzenzelle eines nicht mehr lebenden Klons. Vergr. 930mal.

Daneben finden sich jedoch in den älteren Zellen oft größere Plastidenmassen, wieder vom amöboiden Typ. Die großen amöboiden Plastiden sind bedeutend dicker als etwa die normalen, doch keineswegs nach allen Richtungen des Raumes

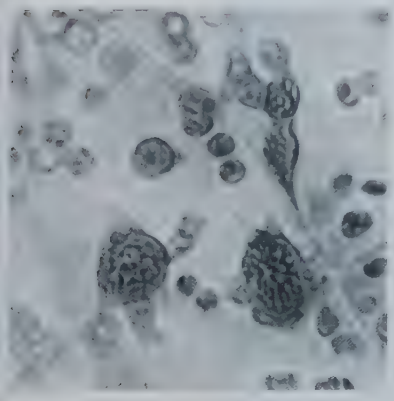


Abb. 18.

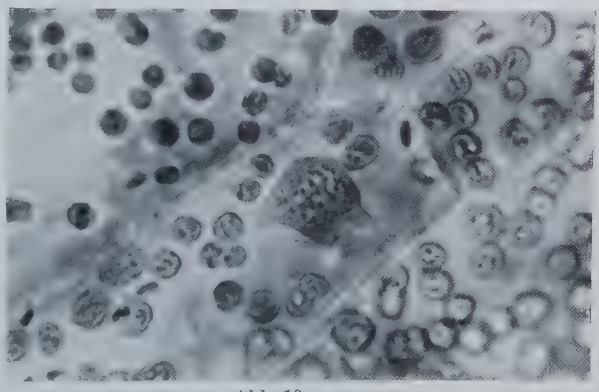


Abb. 19.

gleich ausgedehnt. Die Dicke der großen Plastiden ist bestimmt durch das Vorhandensein und die Größe der Zellvakuole. In ganz jungen Zellen sind auch ± kugelige Formen der großen Plastiden möglich. Alle Plastiden führen reichlich Stärkekörner annähernd normaler Größe. Grana sind unter Normalbedingungen nicht wahrnehmbar. In den jüngsten, meristematischen Zellen kommt oft nur eine einzige klumpige Plastidenmasse vor. Aus den Abb. 18—22 ist deutlich zu ersehen, wie von den großen amöboiden Plastiden kleinere kugelige Plastiden abgeschnürt werden. Besonders auffällig ist, daß von den großen amöboiden Plastidenleibern die kleinen Plastiden in verblüffend gleichen Portionen abgeteilt werden, so daß alle Abkömmlinge fast gleiche Größe besitzen (beim Typ *05* ist

die Größe der nicht amöboiden Plastiden oft beträchtlichen Schwankungen unterworfen). Die 2 Klone dieses Typs entsprechen weitgehend dem Typ C bei KNUD-

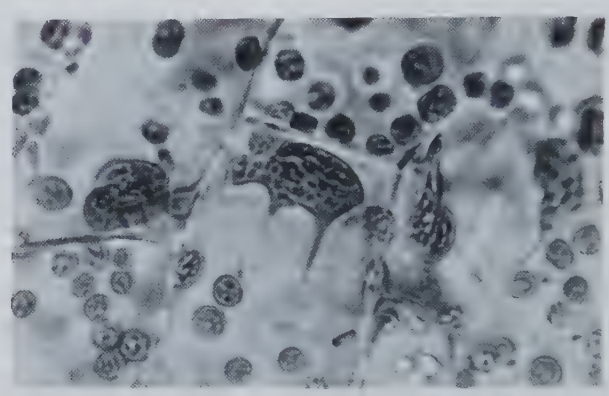


Abb. 20.

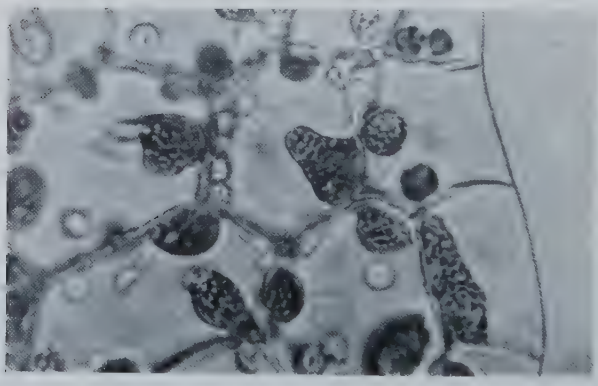


Abb. 21.
Abb. 18—21. IV 0701.

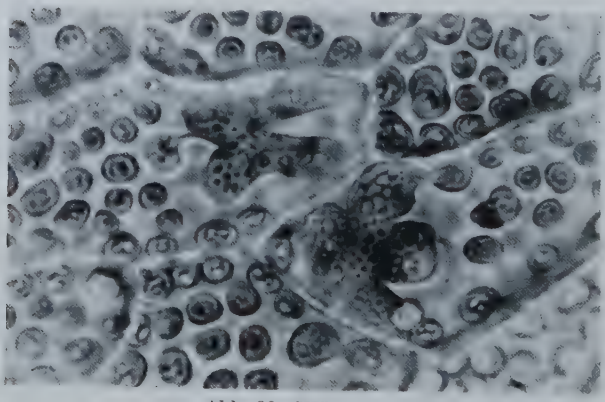


Abb. 22. VII 0701.

SON. Ein Unterschied zu KNUDSONs Material besteht insofern, als KNUDSON angibt, in den jüngsten meristematischen Zellen fänden sich nur normale Plastiden, aus deren Fusion dann die amöboiden Formen entstehen. Siehe Abb. 18—22.

Belege: IV 0701, VII 0701.

08 Wuchs normal. Plastiden in jungen Zellen oft nur ein einziger flacher Lappen mit amöboiden Formen. Diese Plastiden schnüren ähnlich wie beim Typ *07* von ihrem Leib kleinere Plastiden ab, die sich ± abkugeln. Stärkekörner finden sich sehr reichlich. An stärkefreien Rändern der Plastidenlappen kommt die Granastruktur oft deutlich zum Vorschein. Während in jüngeren Zellen sich neben dem großen Plastidenlappen nur einige wesentlich kleinere, abgeschnürte Plastiden finden, zeigen die alten Zellen etwa 8—12 Plastiden fast einheitlicher Größe,

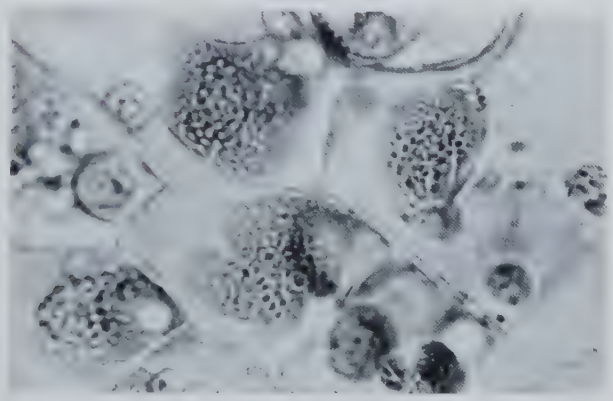


Abb. 23. IX 0801, junge Zellen.

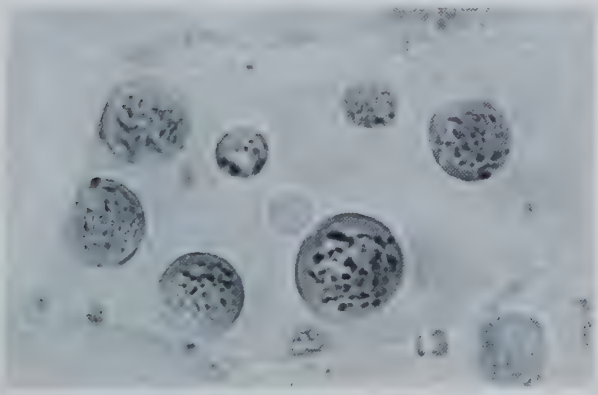


Abb. 24. IX 0801, alte Zellen.

deren Durchmesser jedoch den von normalen bei weitem übertrifft. Dieser Abweicher besitzt die in den Versuchen bisher gefundenen größten Dimensionen der Plastiden. Siehe Abb. 23 und 24.

Beleg: IX 0801.

09 Normaler Wuchs. Plastiden bedeutend größer als normal, nie rundlich, stets schollig oder etwas zipfelig ausgezogen. Die Zellen dicht von den scholligen Plastiden erfüllt. Stärkekörner nicht ausnehmbar. Die Granastruktur ist bei diesem Typ — ganz besonders in älteren Zellen, etwa der Seitenlappen — stark vergröbert und mit seltener Klarheit bei diesem Versuchsobjekt zu beobachten. Fusionen zwischen Plastiden in älteren Zellen kommen relativ häufig vor. Siehe Abb. 25 und 26.

Belege: IV 0901—0903, V 0901, VII 0901, IX 0901.

10 Die Prothallien dieses Typs wachsen außerordentlich langsam und sind gegen ungünstige äußere Einflüsse sehr empfindlich. Die Dimensionen der Plastiden liegen meist etwas über der normalen Größe. Sehr bemerkenswert ist dieser Typ durch die gänzlich abweichende Struktur der Plastiden in jungen Zellen. Dort zeigen nämlich die Plastiden im (fast) farblosen Stroma einige größere, leuchtend grüne Tröpfchen. Die Natur dieser Tropfen konnte noch nicht auf-

Abb. 25.

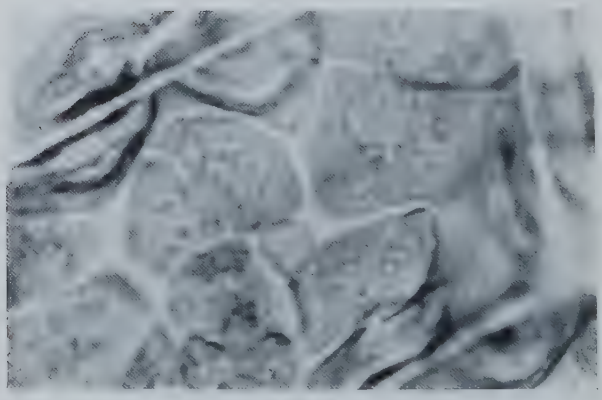


Abb. 26.

Abb. 25 u. 26. IV 0901, beide Vergr. 1680mal.

geklärt werden. Grana sind in solchen jungen Plastiden nicht wahrnehmbar. In den älteren Zellen finden sich Stärkekörner in den Plastiden und die Grana sind meist - bei Anwendung von Immersion — gerade noch erkennbar oder das Stroma erscheint homogen zart-hellgrün gefärbt. Bisweilen kommt es in ganz alten Zellen zur Reduktion der Plastiden zu Leukoplasten mit großen Stärkekörnern. Fadenförmige Verbindungen zwischen den Plastiden und Fortsätze sind nicht selten zu beobachten. Bei den leuchtend grünen Tropfen in jungen Plastiden kann es sich keinesfalls etwa um einzelne Grana handeln, denn es finden sich morphologisch gleitende Übergänge von den „Tropfen" zu den ± vieleckigen Formen von Stärkekörnern in älteren Plastiden bei gleichzeitig gleichmäßigerer Verteilung vom

Chlorophyll über die Plastiden. Wahrscheinlich stellen die grünen „Tropfen" der jungen Plastiden dichte Anhäufungen von Grana dar, in deren Mitte Stärke gebildet wird. Eine Entscheidung über diese offene Frage müssen erst eingehende Untersuchungen bringen. Vergleiche insbesondere die Beobachtungen STRUGGERs über die Aufteilung des „Primärgranums" in ergrünenden *Helodea*-Plastiden zu normaler Farbstoffverteilung in „sekundäre Grana" (STRUGGER 1937). Siehe Abb. 27 und 28.

Belege: IV 1001, VII 1001.

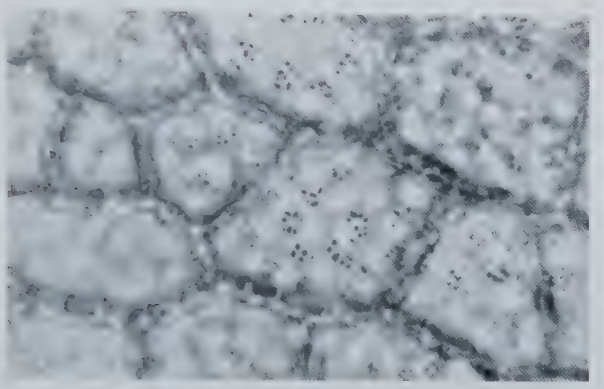


Abb. 27. IV 1001, junge Zellen.

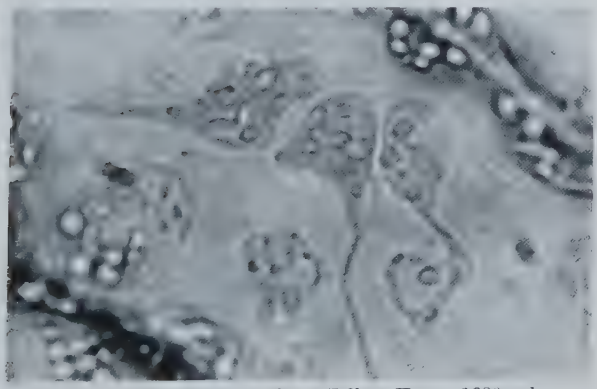


Abb. 28. VII 1001, ältere Zellen, Vergr. 1680mal.

11 Normaler Wuchs. Plastiden größer als normal. In jungen Zellen sind die Plastiden sehr dünn, zart-hellgrün pigmentiert und kommen in sehr mannigfaltigen — oft „ausgezackten" — Formen vor. Fusionen zu dünnen plattenförmigen Plastiden sind öfters zu beobachten. Die Plastiden neigen sehr zur Vakuolenbildung, häufig finden sich 2, manchmal auch 3 und mehr Vakuolen in einer Plastide. Der Vakuolisierungsprozeß schreitet fort bis schließlich die Plastiden nicht mehr dünn-plättchenförmig, sondern vakuolig aufgetrieben in älteren Zellen erscheinen. Stärke in sehr kleiner Ausbildung ist in jungen Zellen stets vorhanden. Siehe Abb. 29.

Beleg: IX 1101.

12 Wuchsform der Prothallien normal, jedoch fallen die Prothallien schon makroskopisch durch ihre hellere Färbung auf. Entwicklung sehr langsam, die Klone sind sehr anfällig gegen schädigende Einflüsse. Die Plastiden dieses Typs sind durch einen osmotischen Defekt ihrer Grenzschicht gekennzeichnet. In den jüngsten Zellen sind die Plastiden oft nur 2—3μ im Durchmesser groß und zart hellgrün gefärbt. Es werden nur wenige und sehr kleine Stärkekörner entwickelt. Schon in jungen Zellen bekommen die Plastiden ein inhomogenes Aussehen. Das Chlorophyll ist nur in einigen Tropfen oder schmalen Bändern an der Oberfläche der Plastiden lokalisiert. In diesem Stadium sind nur mehr ganz wenige und winzige Stärkekörnchen an der Oberfläche der blasigen Plastiden erkennbar. Später

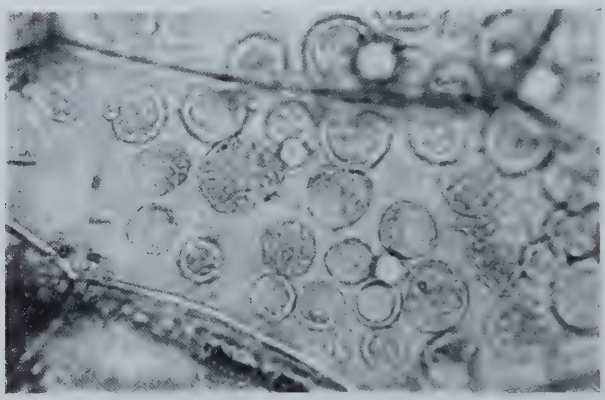


Abb. 29. IX 1101, ältere Zellen.

werden die Plastiden zu mächtigen Blasen aufgetrieben und das Chlorophyll ist zuletzt nur in einem dünnen Film $\pm$ inhomogen verteilt an der Oberfläche der vakuolisierten Plastiden vorhanden. Diese auffallende Vakuolisierung der Plastiden ist jedoch keineswegs zu allen Zeitpunkten und in allen Zellen beobachtbar. Häufig finden sich Zellen mit großen blasig aufgetriebenen Plastiden direkt neben solchen, wo die Struktur der Plastiden normal ist. Stets sind aber die nicht vakuolisierten Plastiden bedeutend kleiner als normal (wie bei Typ 13). Siehe Abb. 30—32.

Belege: IV 1201—1207, V 1201, 1202, VII 1201, 1202, IX 1201—1206.

13 In diese Gruppe wurden alle jene Abweicher zusammengefaßt, deren Färbung unter der normalen Intensität war. Der Wuchs der Prothallien ist meist normal, doch oft auch nur fadenförmig. Bei einigen Klonen dieses zusammengefaßten Typs sind die Zellen kleiner als normal, bei anderen wieder sehr groß, prall turgeszent und plastidenarm. Die Plastiden liegen stets unter der normalen Größe und erreichen oft nur 2—3 μ Durchmesser. Die Anzahl der Plastiden je Zelle ist in vielen Fällen auch noch herabgesetzt. Das Aussehen der Plastiden ist homogen zartgrün, Stärke wird nur in wenigen und kleinen Körnern ausgebildet. Einige Klone zeigen in den Plastiden stark lichtbrechende Tropfen lipoider Natur. Zum Unterschied von den Prothallien des Typs 12, wo die Vakuolisation der Plastiden stets vorkommt und für diesen Typ ein normaler Vorgang im Zellgeschehen ist, kommt sie bei den Prothallien vom Typ 13 nur selten vor. Alle Übergänge von fast normalen Plastiden bis zu winzigen, schwach gelblichen

Plastiden, deren Anzahl je Zelle noch dazu sehr gering ist, sind bei den verschiedenen Klonen dieses zusammengefaßten Typs vertreten. Die Vitalität der Pro-

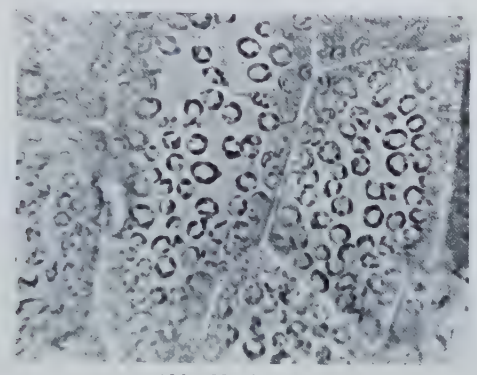


Abb. 30. IV 1201.

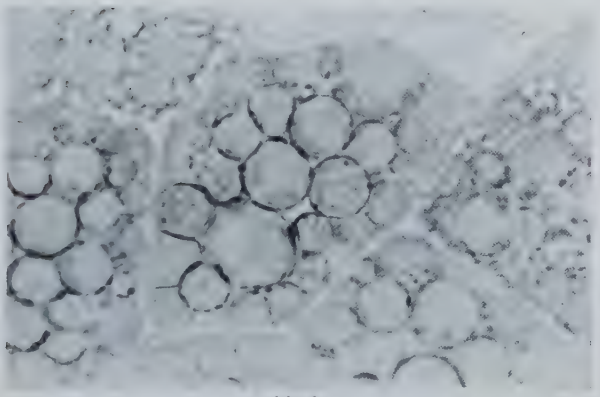


Abb. 31.

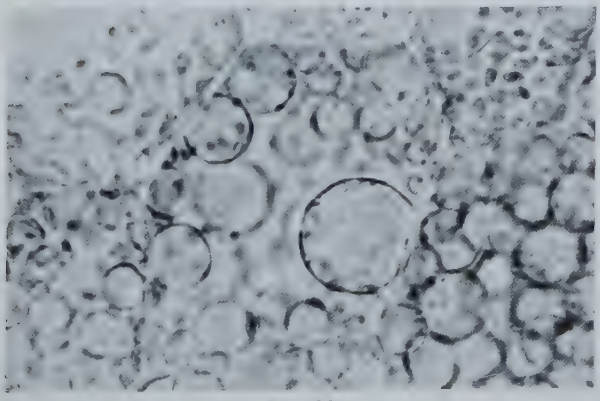


Abb. 32.
Abb. 31 u. 32. IV 1202.

thallien ist selbstverständlich gegenüber den Normalkulturen sehr herabgesetzt. — Dieser Plastidentyp läßt sich durchaus mit den Plastidenformen vergleichen, wie sie bei chlorophylldefekten Formen höherer Pflanzen vorkommen (*alba-*, *lutea-*,

virescens-Mutanten usw.) (FRÖIER 1948, GUSTAFSSON 1942, SCHWARTZ 1949). Dieser Abweichertyp ist in allen Versuchen einer der häufigsten gewesen, doch die bedeutende Modifikabilität der Prothallien dieses Typs durch geringe Änderungen äußerer Bedingungen machte eine eindeutige Erfassung bei der Isolierung der Abweicher unmöglich. Daher wurde davon abgesehen, die Klone dieses Typs und auch die vom Typ *14* in die Berechnung der Abweicherraten einzubeziehen. Siehe Abb. 33 und 34.

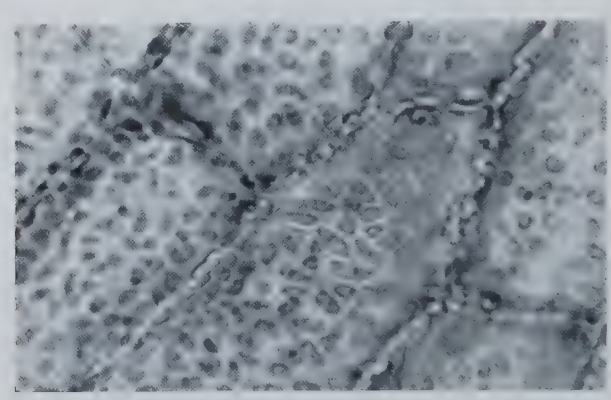


Abb. 33. IV 1310.

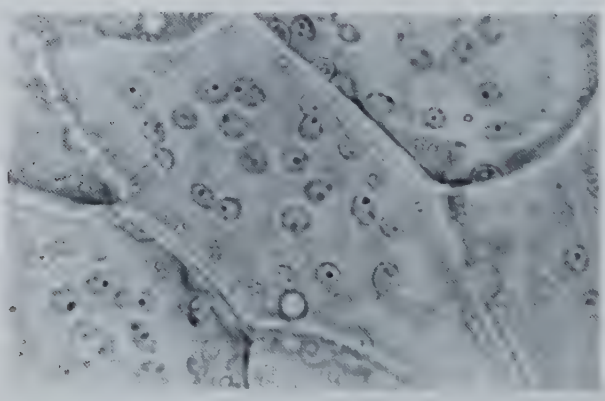


Abb. 34. IX 1306.

Belege: IV 1301—1326, V 1301—1314, VII 1301—1305, IX 1301—1313.

14 Prothallien oft mit unregelmäßigem Wuchs. Die Zellen sind durchwegs kleiner als bei normalen Prothallien. Das Kennzeichen dieses Typs ist das dunkelgrüne Aussehen, das die Prothallien bieten. Die Zellen sind gewöhnlich überfüllt mit normal grünen Plastiden geringer Größe. Vitalität der Prothallien stark herabgesetzt. Dunkelgrüne Prothallien, deren Zellen mit Plastiden überfüllt waren, sind auch von DÖPP (1936) und ROTTMANN (1939) beobachtet worden KÜSTER (1937) zählt in seiner Monographie der Pathologie der Plastiden einige Fälle von Hyperplastidie bei Algen auf. Siehe Abb. 35.

Belege: IV 1401—1403, IX 1401.

15 Prothallien von auffallend abweichender Form. Das Prothallium ist stets mehrere Zellagen dick und ± wurstförmig, manchmal verzweigt. Die Zellwände

sind stets geschwungen — geschweift in ihrem Verlauf, dadurch kommen ganz abweichende, unregelmäßige Zellformen zustande. Die Plastiden sind von erstaunlich uniformer Größe (4 μ), also etwas kleiner als normal und meist sehr zahlreich in jeder Zelle vorhanden. Bisher wurden nie Archegonien beobachtet; Antheridien werden oft häufig gebildet. Siehe Abb. 36.

Belege: IV 1501—1504, V 1501, 1502, VII 1501, IX 1501—1506.

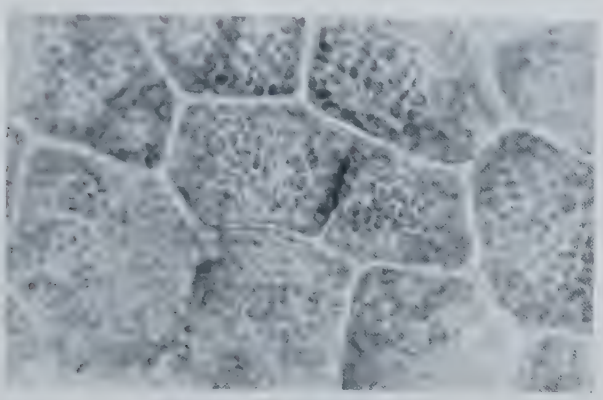


Abb. 35. IV 1401, alte Zellen.

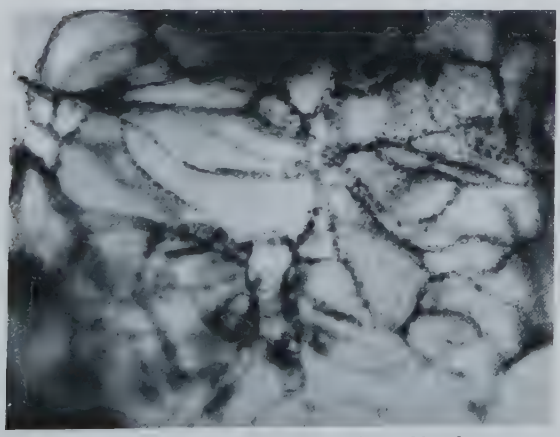


Abb. 36. IV 1502, Vergr. etwa 130mal.

Die bisher beschriebenen Plastidentypen betrafen vor allem solche Abweichungen von der Norm, die durch Veränderungen der Form, Größe, Struktur und Färbung der einzelnen Plastiden bedingt sind. Es folgt nun die Beschreibung solcher Abweichertypen, deren Aussehen durch die Anordnung der Plastiden in der Zelle deutlich gekennzeichnet ist. Die einzelnen Typen dieser Gruppe von Abweichern lassen sich schon bei schwächster Vergrößerung mühelos erkennen.

16 Wuchs der Prothallien normal. Sämtliche Plastiden aller lebenden Zellen — auch der ältesten — finden sich dicht angehäuft — „gepackt" — um den Zellkern (strenge permanente Karyostrophe der Plastiden). Die Einzelplastiden haben normales Aussehen. Aus angeschnittenen Zellen traten bei einer Untersuchung solche Plastiden-„Ballen" ins Medium (Leitungswasser) aus, sie blieben dicht um den Kern gepackt, wie in der lebenden Zelle. Das Wachstum dieser Prothallien ist im

Vergleich zu normalen langsamer; Regenerationsfähigkeit und Vitalität stehen jedoch den normalen in nichts nach. In einem bisher erhaltenen jungen Selbstungssporophyten sind die Plastiden ebenfalls in allen Teilen des Sporophyten

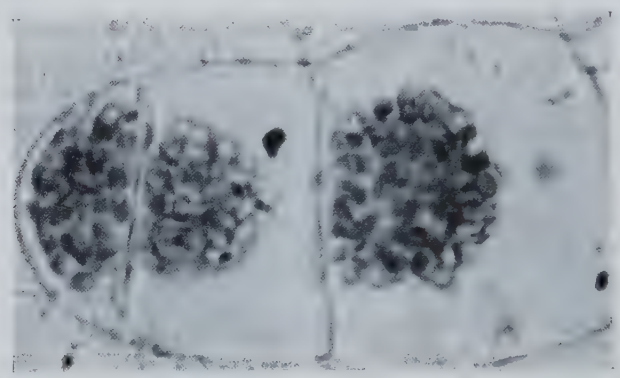


Abb. 37. IV 1601, Spitzenzellen noch im Fadenstadium (Aufnahme vom Dezember 1947). Vergr. 930mal.

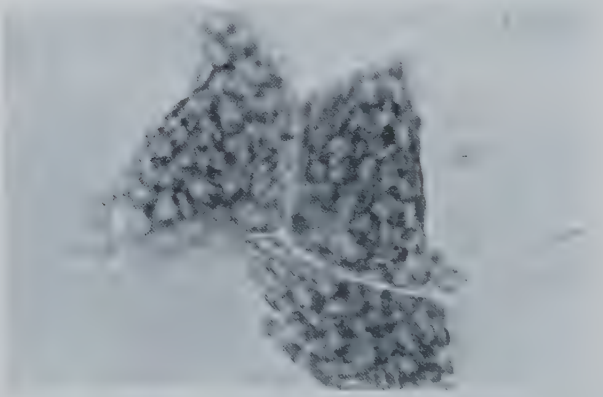


Abb. 38. IV 1601, Seitenlappen des Prothalliums (Aufnahme vom Dezember 1949).

Abb. 39. *Phyllitis scolopendrium*, Vergr. etwa 130mal.

streng um den Kern geballt. KNUDSON erhielt in seinen Versuchen genau den gleichen Typ und erhielt davon auch Sporophyten (Typ B, worunter jedoch auch solche Abweicher verstanden werden, die hier unter Typ *17* beschrieben sind). —

Erwähnt sei hier, daß in einem größeren Vorversuch mit *Phyllitis scolopendrium* im Sommer 1947 aus Kulturen, deren Sporen mit Röntgenstrahlen (5000 r) behandelt wurden, 2 Prothallien isoliert werden konnten, die dem hier beschriebenen Typ bei *Polypodium* in allen Einzelheiten entsprechen. Die aus diesen Prothallien hervorgegangenen Selbstungssporophyten zeigen sowohl in der „primären Wurzel" als auch in den Blättchen ebenso strenge Ballungen der Plastiden um den Kern wie im Gametophyten. Siehe Abb. 37—39.

Belege: IV 1601, 1602, V 1601—1605, IX 1601—1604.

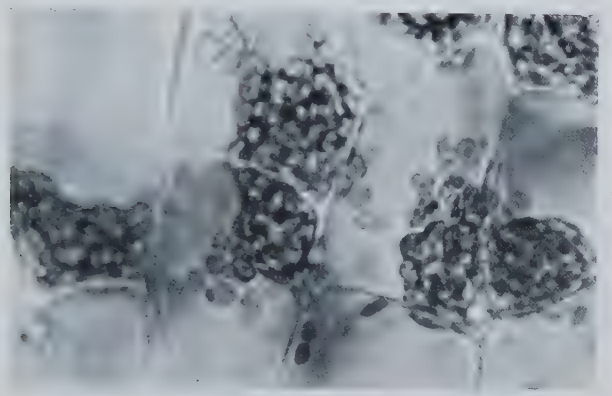


Abb. 40. IV 1701.

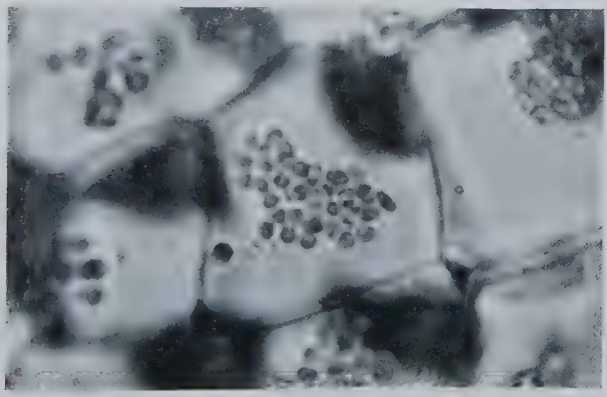


Abb. 41. IV 1701, die Hauptmasse der Plastiden, die den Kern umgibt, ist infolge anderer Einstellebene nur als dunkler Schatten zu sehen.

17 Der einzige Unterschied zu den Prothallien vom Typ *16* besteht darin, daß nicht sämtliche Plastiden streng geballt um den Zellkern liegen, sondern die Gruppierung etwas locker ist und ein kleiner Teil der Plastiden außerhalb des „Ballens" liegt. Das gilt ebenso für die jüngsten wie auch die ältesten Zellen. — Es sei hier eingeschoben, daß eine Unterscheidung der Typen *16* und *17* schon im Stadium des wenigzelligen Keimlings möglich ist. — Auch hier findet sich in jungen Selbstungssporophyten die gleiche Plastidenanordnung in allen Zellen wie im Gametophyten. Knudson faßt Abweicher dieser Art mit solchen, die dem Typ *16* entsprechen, in seinem Typ B zusammen. Siehe Abb. 40 und 41.

Belege: IV 1701, 1702, IX 1701.

18 In allen Zellen der Prothallien findet sich gleichmäßig eine diffuse Gruppierung der Plastiden. Der Großteil des Zellinhaltes ist von gruppierten Plastiden erfüllt, nur in der Peripherie der Zellen sind plastidenfreie Zonen zu sehen. Die Abb. 42 läßt deutlich erkennen, daß der größte Teil der Plastiden an der Oberfläche des Ballens sich zur Oberfläche der Zelle in Profilstellung befindet. SieheAbb. 42.

Beleg: VII 1801.

19 Lockere oder dichte Ballung der Plastiden um den Kern in den jungen Zellen. Die Gruppierung der Plastiden läßt mit zunehmendem Alter der Zelle nach und schließlich findet sich eine normale Verteilung der Plastiden über die Zelloberfläche in alten Zellen. Der Übergang von den jungen Zellen mit geballten Plastiden zu den normal ausschenden ist gleitend. Alte Zellen im Prothallium, die wieder embryonal werden, indem sie neuerlich Mitosen eingehen, die zur Bildung von

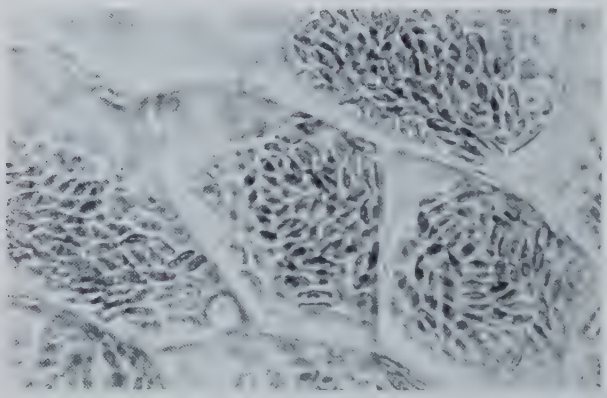


Abb. 42. VII 1801.

Adventivprothallien führen, sind leicht schon vor Beginn der Mitose zu erkennen: Mitten unter alten Zellen mit normaler Plastidenverteilung sieht man eine Zelle, deren Plastiden wieder streng um den Kern geballt sind — so wie das für die jungen embryonalen Zellen charakteristisch ist. Während also bei den Abweichern der Typen *16—18* die Lage der Plastiden um den Zellkern vom physiologischen und entwicklungsgeschichtlichen Zustand der Zellen unabhängig ist, ist bei dem Typ *19* die Ballung der Plastiden weitgehend an einen ± embryonalen Zustand der Zelle gebunden. Siehe Abb. 43 und 44.

Belege: IV 1901—1906, VII 1901—1903, IX 1901—1904.

20 Stets sind mehrere Plastiden zusammen zu Klumpen oder Ketten verklebt (agglutiniert). Besonders deutlich sind die Gruppierungen der Plastiden in jungen Zellen ausgeprägt. Die Größe der Einzelplastiden liegt meist über den normalen Ausmaßen. Durch mehrere, etwas grobe Stärkekörner erscheinen die Plastiden einiger Klone dieses Typs etwas uneben. Vakuolige Degeneration der Plastiden kommt öfter vor. In älteren Zellen folgt eine Auflockerung der Verklebungen. Die Anzahl der Plastiden je Zelle ist stets relativ gering und die Prothallien erscheinen dadurch im Gesamtbild etwas hellgrün. KNUDSONS Typen I und J weisen weitgehende Ähnlichkeiten mit dem hier besprochenen Typ *20* auf. Siehe Abb. 45—47.

Belege: IV 2001, 2002, V 2001, 2002, IX 2001—2008.

Der Besprechung dieser Abweichertypen *16—20* sei kurz ein Hinweis auf pathologische Plastidengruppierungen in absterbenden Zellen normaler Prothallien angeschlossen. Im Gegensatz zu den Abweichertypen, bei denen die beschriebenen Gruppierungen und Verklebungen der Plastiden in voll funktionsfähigen, gesunden Zellen den Normalzustand darstellen, sind in den Abb. 48 und 49 Plastidenanordnungen in Zellen von pilzbefallenen Prothallien kurz vor dem Absterben zu sehen.

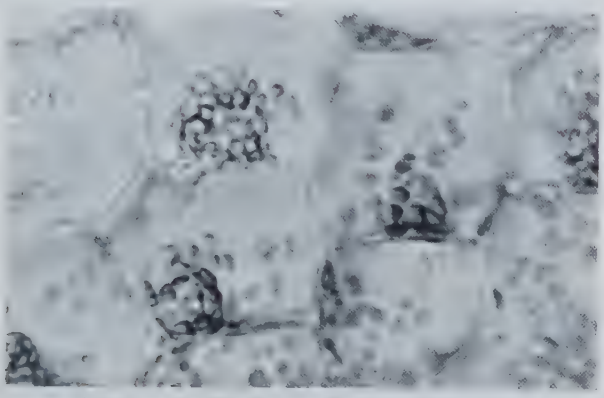


Abb. 43. IV 1903. Zellen der embryonalen Zone.

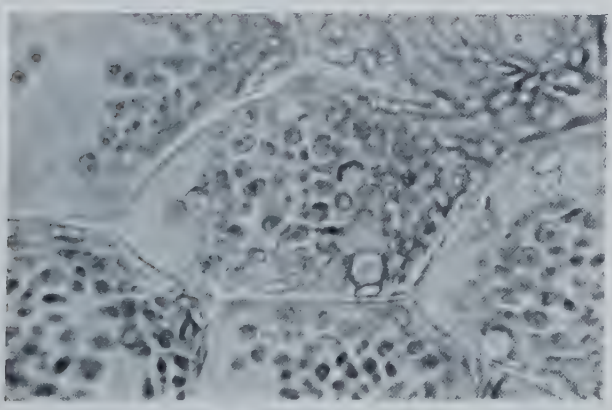


Abb. 44. IV 1903. alte Zellen.

Vergleicht man die einzelnen Abweichertypen untereinander, so fällt es nicht schwer, eine weitere Gruppierung vorzunehmen.

Den Typen *01—04* ist gemeinsam eine allgemeine flächige Vergrößerung der Einzelplastiden und eine Herabsetzung der Oberflächenspannung, die sich in der Tendenz der Plastiden zu dünnen, plattenförmigen Fusionen kundgibt.

Die Typen *05* und *06* zeigen ebenfalls eine allgemeine Vergrößerung der Plastiden, die jedoch stets $\pm$ kugelig und außerdem durch eine starke Vergröberung der Stärkekörner gekennzeichnet sind. Fusionen der Plastiden kommen häufig vor, jedoch sehr selten (nur bei *06*) zu dünnen plattenförmigen Fusionen. Dick-amöboide Fusionsfiguren sind bei *05* recht häufig.

Typen *07* und *08* haben in jungen Zellen riesige Klumpen amöboider Plastidenmasse, von denen in der Folge kleinere Plastiden abgeschnürt werden. Die Stärkekörner sind relativ klein und oft in ± spindeligen Formen ausgebildet.

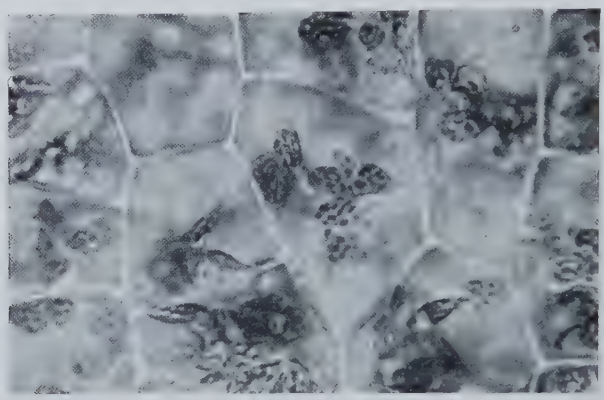


Abb. 45. IV 2001, junge Zellen.

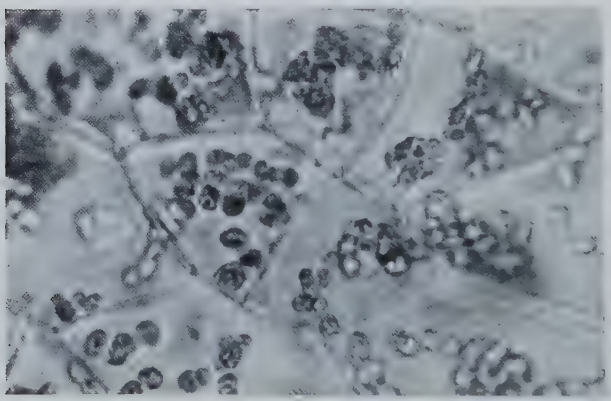


Abb. 46. V 2001, junge Zellen.

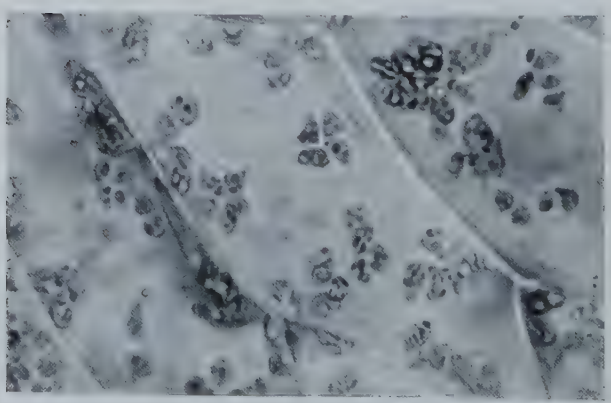


Abb. 47. V 2001, alte Zellen.

Typ *09* ist durch schollige, große und stärkelose (zumindest in älteren Zellen) Plastidenformen mit bedeutend größeren Strukturelementen (den Grana) als sie bei anderen Typen vorkommen, ausgezeichnet.

Eine Sonderstellung unter allen Abweichern nimmt der Typ *10* ein. Die Grana scheinen in jüngeren Plastiden zu größeren Aggregaten (Tropfen) vereinigt, in deren Mitte Stärke gebildet wird. Später erfolgt mit dem Wachstum der Stärkekörner eine gleichmäßigere Verteilung der Grana im Stroma.

Die 4 Typen *10—13* fallen durch die zarte, hellgrüne Färbung der Prothallien auf. Häufige Vakuolisierungen der Plastiden sind für die Typen *11* und besonders

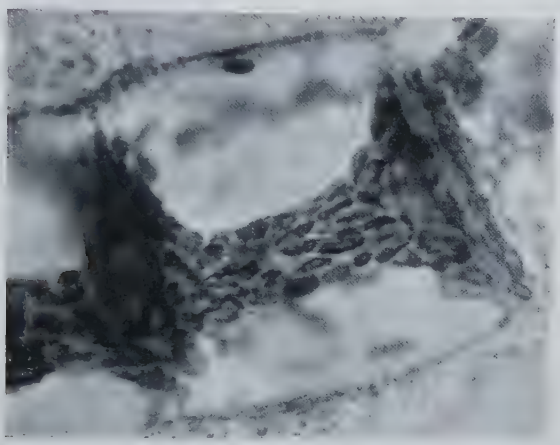


Abb. 48.

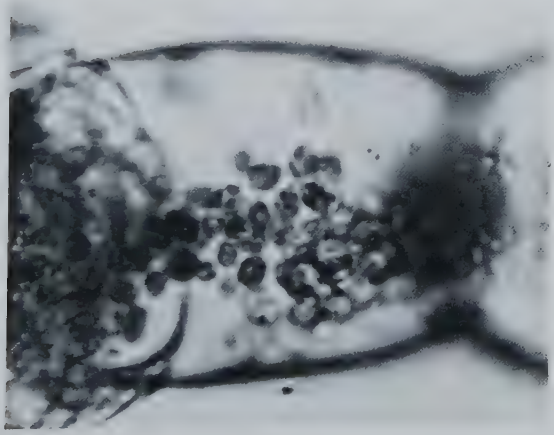


Abb. 49.

Abb. 48 u. 49. Nekrotische Gruppierungen, Vergr. 930mal.

12 charakteristisch. Durch die Form und Größe der nicht vakuolisierten Plastiden sowie die Mehrzahl der Vakuolen je Plastide hebt sich Typ *11* deutlich von *12* ab, während bei Typ *13* Vakuolen in den Plastiden selten vorkommen.

In den Typen *14* und *15* sind die Plastiden von erstaunlich uniformer Größe, sowohl in jungen wie auch in alten Zellen. Das ist darauf zurückzuführen, daß es in älteren Zellen durch eine zumindest teilweise Aufhebung der Regulation der Plastidenteilung meist zu einer Überfüllung der Zellen mit vielen kleinen Plastiden kommt.

Die Typen *16—20* zeigen alle Veränderungen hinsichtlich der Anordnung der Plastiden in der Zelle. Zumindest in jungen Zellen (s. Typ *19*) sind die Plastiden

± eng um den Kern herum gruppiert. Etwas aus dieser Reihe fällt Typ *20*, bei dem die Einzelplastiden keine normalen Formen und Strukturen aufweisen und auch meist nur wenige Plastiden miteinander agglutiniert sind.

V. Diskussion.

Die Chloroplasten der Cormophyten sind — im Gegensatz zu denen der Algen — von erstaunlicher Einheitlichkeit sowohl der Größe und Form als auch der Struktur. Ausnahmen bilden nur die bekannten Beispiele von *Anthoceros*, *Selaginella* und *Peperomia metallica* (KÜSTER 1935, SCHÜRHOFF 1924). Im Zusammenhang mit der ungleich reicheren Differenzierung der Cormophyten erscheint eine Aufteilung des Plastidenapparates in eine größere Anzahl kleinerer Einheiten recht vorteilhaft. Unter anderem wird sich die dadurch innerhalb des Plasmas erzielte Vergrößerung der Oberflächen sowohl auf assimilatorische als auch dissimilatorische Prozesse günstig auswirken. Das gleiche gilt für regulative Vorgänge, wie sie uns z. B. in den Lageveränderungen der Plastiden bei verschiedener Beleuchtungsintensität sichtlich entgegentreten (vgl. auch MÖBIUS 1920). Abweichungen von dieser einheitlichen Norm sind vor allem von genetischer Seite berichtet worden.

Bekanntlich können durch Änderungen des Erbgutes alle Organe und Eigenschaften eines Organismus verändert werden. Besonderes Interesse unter all den vielen bekannten mutativen Veränderungen kommt den sich intrazellulär manifestierenden Mutationen zu. An verschiedenen genetisch gut studierten pflanzlichen und tierischen Objekten sind eine Reihe von Mutationen beschrieben worden, die die Beschaffenheit der Chromosomen beeinflussen (z. B. *„sticky chromosomes"* beim Mais, BEADLE 1932) oder Störungen der Chromosomenteilung bewirken. Eine Zusammenstellung all dieser Fälle gibt STUBBE (1938). Im weiteren Sinn gehören zu den sich intrazellulär manifestierenden Mutationen auch die Erscheinungen erblicher Chlorophylldefekte. Gerade die Analysen von Chlorophylldefekten haben unsere Kenntnisse von der Wirkungsweise der Gene und dem genetischen System der Zelle erheblich gefördert. So ist aus zahlreichen Untersuchungen bekanntgeworden, daß an der normalen Ausbildung nur eines Zellorganells, der Plastiden, eine größere Zahl von Genen beteiligt ist und wie die Fälle von nichtmendelnder Weißbuntheit zeigen, auch den Plastiden selbst oder dem Plasma eine gewisse genetische Selbständigkeit zukommt.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Anzahl konstant abweichender Formen von Plastiden beschrieben. In den meisten Fällen ist der Wuchs von Prothallien mit veränderten Plastiden ± normal. Demnach haben wir es (sehr wahrscheinlich) mit Änderungen im Idiotyp des Individuums zu tun, die sich intrazellulär manifestieren, wie dies z. B. in der erniedrigten Oberflächenspannung der Plastiden bei den Typen *01—04* oder den Gruppierungen der Plastiden bei den Typen *16* bis *20* zum Ausdruck kommt.

EYSTER (1929) untersuchte verschiedene Maisrassen und fand bei einigen Stämmen außerordentlich große Plastiden, die oft nur in Zweizahl in der Zelle vorhanden waren. Bei *Polystichum angulare* wird nach ANDERSSON-KOTTÖ (1931) das Merkmal *„wenige, große (giant) Plastiden"* monogen dominant über *„normale Plastiden"* vererbt. KNUDSON erwähnt, daß im Falle der riesigen, plattenförmigen Plastiden — die dem Typ *02* dieser Arbeit entsprechen — im Sporophyten sich

derselbe Plastidenhabitus zeigte und ebenso in der nachfolgenden Gametophytengeneration. Leider hat KNUDSON keine Kreuzungen zwischen seinen Plastidenabweichern und normalen Prothallien hergestellt, so daß über die genetischen Ursachen der Plastidenänderungen in seinen Versuchen nichts ausgesagt werden kann.

Von den im vorstehenden Abschnitt geschilderten Abweichertypen wurden im Winter 1948/49 und Sommer 1950 eine größere Anzahl von reziproken Kreuzungen sowohl mit normalen Prothallien als auch der verschiedenen Typen untereinander vorgenommen. Leider sind die Sporophyten noch nicht weit entwickelt; überhaupt ist die Entwicklung von *Polypodium aureum* eine extrem langsame. Trotzdem also das Experimentum crucis an den verschiedenen Abweichern noch keine Schlüsse auf die genetische Bedingtheit der Plastidenänderungen erlaubt, seien hier einige Bemerkungen zu den in Frage kommenden genetischen Ursachen eingefügt.

Das verwendete Sporenmaterial ist — wie schon erwähnt — haploid. Dadurch kann sich auch jede eintretende rezessive Mutation sofort manifestieren. Alle Abweicher zeigten das für sie charakteristische Plastidenphän schon in den ersten, bei der Keimung gebildeten, Zellen. Neben den beschriebenen Abweichern wurde in den Versuchen auch eine Anzahl von Prothallien isoliert, die — oft relativ spät im Laufe der Entwicklung — blasse bis farblose Sektoren zeigten und deren vegetative Klonnachkommen oft wieder bleiche Sektoren produzierten. Es ist möglich, daß es sich dabei um Entmischung zweier verschiedener Plastidensorten im Sinne von BAUR und RENNER handelt (s. CORRENS-WETTSTEIN 1937, dort ausführliche Literaturangaben). Man hätte demnach zwischen 2 grundverschiedenen Plastidenabänderungen zu unterscheiden: a) solche, deren Ursachen in Änderungen innerhalb des Zellkernes liegen (Gen- und Chromosomenmutationen) und b) kernunabhängige Änderungen im Plastidom oder Plasmon. Letztere müßten einen nichtmendelnden Vererbungsmodus zeigen. Es wäre nach unseren heutigen Vorstellungen von den genetischen Komponenten außerhalb des Kernes schwer möglich, daß solche Änderungen sich gleich nach den ersten Mitosen nach der Einwirkung des auslösenden Agens manifestieren könnten, wie es bei Gen- oder Chromosomenmutationen in einem haploiden Organismus der Fall sein kann. [Vergleiche insbesonders die aufschlußreiche Arbeit von PREER an *Paramaecium aurelia* über die Reproduktion und Verteilung des plasmatischen Faktors (Partikel) „*Kappa*".] KNUDSON meinte nun aus den von ihm beobachteten Plastidenänderungen und der Tatsache, daß bei den verschiedenen Abweichertypen die Plastiden nicht in allen Teilen des Gameto- bzw. Sporophyten das gleiche Aussehen zeigten, schließen zu dürfen, daß es sich wohl um kernunabhängige Plastidenmutationen handelt: "On theoretical grounds it is suggested that the plastid changes may be independent of any genic changes, and that certain plant mutations may be due solely to plastid changes." Obwohl prinzipiell möglich, erscheint solche Ansicht doch noch unbegründet, zumal KNUDSON ganz außer acht läßt, daß das Aussehen der Plastiden auch im Gefolge genbedingter Differenzierungsprozesse ganz erheblich wechseln kann. Um nur ein Beispiel zu nennen, sei auf das Zeichnungsmuster der verschiedenen *striped*-Sippen beim Mais hingewiesen (Zusammenstellung bei CORRENS-WETTSTEIN 1937). Selbst die innerhalb einer Zelle beobachtete Variabilität der Plastiden spricht in keiner Weise gegen eine genische Kontrolle der Plastidenphäne.

In dem Abschnitt III dieser Arbeit wurde schon erwähnt, daß die 3 verschiedenen angewandten Strahlenarten (Röntgen, γ-Strahlen und Ultraviolett) bezüglich der Auslösung von Plastidenänderungen gleichsinnig wirkten. Ferner wurde bemerkt, daß die erzielten Raten von Abweichern durchaus im Häufigkeitsbereich von Genmutationen liegen. Die Möglichkeit einer nur modifikativen Bedingtheit der Plastidenänderungen kann unter Hinweis auf die Konstanz der Abweichertypen unter verschiedenen Kulturbedingungen außer acht gelassen werden. Fast ebenso unwahrscheinlich wäre die Annahme von strahleninduzierten Dauermodifikationen als Ursache der konstant abweichenden Plastidenphäne: von einem Abklingen der Erscheinungen kann bisher keine Rede sein. Bleibt nur noch die Annahme von Änderungen im Genom (Gen- und Chromosomenmutationen) übrig, die den beschriebenen Plastidenänderungen zugrunde liegen können. Diese Annahme hat zur Zeit die größte Wahrscheinlichkeit für sich. Es sei jedoch nachdrücklichst darauf hingewiesen, daß sich eine Entscheidung der Frage, welche Komponenten des Idiotyps den veränderten Phänotyp der Plastiden bedingen, einzig und allein durch das Kreuzungsexperiment erzielen läßt.

Bemerkungen zu Fragen der Plastidenstruktur.

Seit den Untersuchungen von Doutreligne (1935), Geitler (1937), Heitz (1936), Menke (1940) und Metzner (1937) kann an der Allgemeingültigkeit der Granalehre der Plastiden kaum mehr gezweifelt werden. Namentlich Heitz hat ausführliche Belege dafür gebracht und auch eine Reihe von Ursachen angegeben, durch die die Granastruktur schwer wahrnehmbar sein kann. Menke (1938, 1940) entwickelte dann unter Anwendung verschiedener optischer Methoden die Vorstellung, daß dem submikroskopischen Feinbau der Plastiden eine lamelläre Grundstruktur zugrunde liege und die Grana lokale Verdickungen der Lamellenlagen darstellen (s. auch Frey-Wyssling 1948). Dieser Ansicht vom Feinbau der Plastiden ist bis heute noch nicht widersprochen worden. Ungeklärt ist allerdings noch immer die Frage, ob es sich um durchgehende Lamellenschichten handelt, wie Menke annimmt und bei *Anthoceros* auch abbildet. De Rezende-Pinto (1948) findet nämlich, daß die Grana an einem Band (Faden) aufgereiht sind. Der Faden wird — in Analogie zum Chromonema — Chloroplastonema genannt. Das Chloroplastonema wäre nach Auffassung dieses Autoren an der Oberfläche der Plastiden aufgewunden [vgl. insbesondere die alten Ansichten vom Bau der Plastiden von Fr. Schwarz (1892) und aus neuerer Zeit Yuasa (1940)]. De Rezende-Pinto meint, daß die Annahme einer solchen „structure hélicoïdale" durchaus mit den von Menke und anderen Autoren beobachteten polarisationsoptischen Erscheinungen vereinbar sei.

Neuerdings bringt de Rezende-Pinto (1949) Beobachtungen an *Anthoceros*, also demselben Objekt wie in Menkes Studien. Nach Dunkelhaltung der Thalli werden dünne Schnitte angefertigt und in destilliertes Wasser übertragen. Durch osmotisches Anschwellen der „vacuoles amylogènes" werden die „Chloroplastonemen" auseinander getrieben. In den erhaltenen Bildern sieht der Verfasser einen weiteren Beleg für seine Auffassung von der „structure helicoïdale", bemerkt jedoch selbst: „Donnée leur grand épaisseur, on ne doit pas considérer ces filaments comme des chloroplastonémas, mais comme des ensembles de ceux-ci", womit eine gewisse Annäherung an Menkes Bilder bereits gegeben ist.

Von elektronenoptischer Seite sind bisher keine entscheidenden Beiträge zu dieser Frage geliefert worden, und die Ansichten der verschiedenen Forscher über

die Herkunft der von ihnen abgebildeten Proteinlamellen (?) gehen auseinander (Kausche und Ruska 1940, Menke 1940b, Granick und Porter 1947, Frey-Wyssling und Mühlethaler 1949). Lärz (1942) und Bauer (1942) haben — wohl unter dem Eindruck der Beobachtungen und Schlüsse Menkes — an pathologisch veränderten Plastiden eine „Aufblätterung" des Stromas in Lamellen beschrieben und auch abgebildet. Leider wirken die in diesen Arbeiten gebrachten Abbildungen nicht gerade beweisend für die Richtigkeit der Auffassung von „aufgeblätterten Lamellenschichten". Es scheint demnach, daß in Fragen des Feinbaus der Plastiden noch nicht das letzte Wort gesprochen ist.

Über das Zustandekommen der Struktur in voll ausgebildeten Plastiden liegt lediglich eine Mitteilung von Strugger (1937) vor. In ergrünenden *Helodea*-Plastiden findet sich das Chlorophyll vorerst nur in größeren Tropfen, den „primären Grana". Durch Zerteilung der primären Grana in immer kleinere Einheiten entsteht erst die „sekundäre" Granastruktur. Wie man sich den Vorgang im einzelnen vorzustellen hat, bleibt vorläufig noch unklar.

In der vorliegenden Arbeit sind 2 Typen von Abweichern beschrieben, die im Zusammenhang mit Fragen des Feinbaus der Plastiden besonderes Interesse verdienen. Einmal konnte an Hand des Abweichertyps *09* gezeigt werden, wie durch Änderung endogener Faktoren (wahrscheinlich mutative Veränderungen) die Größe der einzelnen Grana zu einer bei *Polypodium* sonst nie wahrnehmbaren Deutlichkeit gesteigert werden kann [über spontane Schwankungen der Größe der Grana vgl. Heitz (1936)]. Zum anderen bietet der Typ *10* die Besonderheit, daß in allen jungen Zellen das Chlorophyll vorerst nur in größeren „Tropfen" — oder Aggregaten von Grana — lokalisiert ist und erst relativ spät die ± gleichmäßige Verteilung der Grana im Stroma erfolgt. Solche Abweicher, bei denen einzelne Strukturelemente vergrößert sind oder bestimmte Vorgänge, wie die gleichmäßige Verteilung der Grana über die Plastide, stark verzögert erscheinen — ohne daß man von einer pathologischen Erscheinung sprechen kann — dürften besonders geeignetes Ausgangsmaterial für weitere Untersuchungen zu Strukturfragen liefern.

Von allgemeinem Interesse in der Zytologie ist auch die Frage, ob den Plastiden eine semipermeable Grenzschicht zukommt. Man wird mit Dangeard (1941), Wieler (1936), Knudson, Lärz, Bauer, Schwartz (1949) und anderen Forschern diese Frage eindeutig bejahen können (s. die Abweichertypen *11* und *12* dieser Arbeit). Uneinigkeit scheint jedoch bezüglich des Ortes dieser Membran der Plastiden zu bestehen. In vielen Fällen — wie auch bei den Typen *11* und *12* dieser Arbeit — tritt eine oder mehrere Vakuolen im Inneren der Plastiden auf, die Vakuole vergrößert sich, bis schließlich die Plastide blasig aufgetrieben erscheint und die Plastidensubstanz mit dem Chlorophyll sich ± inhomogen verteilt an der Oberfläche der „Blase" findet. Lärz untersuchte eingehend Vakuclisationserscheinungen, die an Plastiden infolge von Alkaloideinwirkung auftraten.

Bei Belichtung alkaloidbehandelter Pflanzen erfolgte eine osmotische Aufblähung der Plastiden, die sich durch Einwirkung hypertonischer Lösungen vollkommen rückgängig machen läßt. Die Aufblähung ist durch Verhinderung oder Hemmung der Diffusion des Assimilatzuckers durch die Plastidengrenzschicht bedingt. Bei allen geprüften Alkaloiden — ausgenommen Kokain — befand sich das Stroma der Plastiden innerhalb der Vakuolenhülle, so daß von einem Ablösen

der Oberflächenhaut der Plastiden gesprochen wird. Im Falle der Kokaineinwirkung war jedoch das Stroma der Vakuolenhülle außen angelagert, wie es auch zumeist bei Vakuolisation der Plastiden vorkommt [s. Typen *11* und *12*, Bauer, Knudson, Küster (1937) und Schwartz (1949)]. Man wird daher kaum fehlgehen, wenn man für die Plastiden — sowie für das Plasma — eine äußere und innere semipermeable Grenzschicht annimmt, wobei die letztere dann die Begrenzung der „vacuole amylogène" von Maige (1934) darstellen könnte.

Das erarbeitete Material zeigt in bezug auf die Ausbildung nur eines Zellorganells, der Plastiden, eine erstaunliche Mannigfaltigkeit sowohl was Form, Größe, Struktur und Pigmentgehalt anlangt (Typen *01—15*), als auch die Anordnung der Plastiden innerhalb der Zelle betrifft (Typen *16—20*). Nichts spricht dafür, daß in den Versuchen irgendwelche neuartigen Strukturelemente aufgetreten wären, lediglich einige quantitative Abänderungen der einzelnen Strukturelemente in morphologischer wie funktioneller Hinsicht können stattgefunden haben. Der erste Schritt, die Schaffung einer Mannigfaltigkeit aus bekanntem Ausgangsmaterial, ist getan. Es bleiben nun noch die genetischen Grundlagen der beobachteten Abänderungen aufzuklären. Das Objekt ist in genetischer Hinsicht durch seine langwierige Entwicklung sicherlich ungünstig, dafür bietet es eine Reihe bedeutender Vorteile für andere Fragestellungen. Lebenduntersuchungen zu Fragen der Feinstruktur der Plastiden können ohne irgendwelche schädigende Eingriffe vorgenommen werden. Gegenüber der Norm abweichend strukturierte, vitale Plastidenformen sind reichlicher vorhanden als bisher mit allen möglichen „Giftmethoden" erzielt werden konnten. Ebenso lohnend scheinen Untersuchungen über den Differenzierungsverlauf im äußerlich so einfach gleichförmig gebauten Prothallium. Eine Kennzeichnung verschiedener Entwicklungsstufen von Prothallienzellen auf protoplasmatischer Grundlage im erweiterten Sinn läßt sich ohne Anwendung von Plasmolyse vornehmen (bei solchen Abweichern mit verschiedenen Plastidenformen in den einzelnen Teilen des Prothalliums). Damit seien nur kurz einige Problemstellungen angedeutet, zu deren Lösung verschiedene Abweichertypen mit Erfolg herangezogen werden könnten.

Zusammenfassung.

Sporen von *Polypodium aureum* wurden mit Röntgen-, γ- und UV-Strahlen entweder in gequollenem oder trockenem Zustand behandelt.

Aus unbestrahlten Kontrollkulturen und vor allem aus den Kulturen, die aus bestrahlten Sporen hervorgegangen waren, wurde eine Anzahl von Prothallien mit abnormen Plastidenerscheinungen isoliert und getrennt in Klonkulturen weitergezogen.

Die gefundenen Plastidenabweicher waren gegenüber den normalen Prothallien durch konstante Abänderungen sowohl der Form, Struktur, Größe und Pigmentierung der Plastiden als auch bezüglich der räumlichen Verteilung der Plastiden in der Zelle gekennzeichnet.

Nach dem Erscheinungsbild der Plastiden wurden die abweichenden Klone in 20 verschiedene Abweichertypen geordnet und beschrieben. Mikrophotographien sind reichlich zur Illustration der Beschreibungen beigegeben.

Die Plastidenänderungen hielten sich — in vielen Fällen schon über 3 Jahre — bei fortgesetzter vegetativer Vermehrung und Regeneration unter schwankenden Außenbedingungen völlig konstant.

Fragen der genetischen Bedingtheit der Plastidenabänderungen und Probleme der Plastidenstruktur werden — soweit sie eben im Zusammenhang mit den in dieser Arbeit aufgeworfenen Fragen stehen — kurz besprochen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Stubbe in Gatersleben für die Bereitstellung finanzieller Mittel, Herrn Doz. Vering vom Hygienischen Institut der Universität Wien, Herrn Dr. J. Zakowsky, Zentral-Röntgeninstitut des Allgemeinen Krankenhauses in Wien, Frau Dr. H. Maier (Sonderabteilung für Strahlentherapie im Krankenhaus Lainz) und Herrn Wegner (Höhere Bundeslehranstalt Klosterneuburg) für ihr Entgegenkommen. Fräulein Henriette Zecha und Fräulein Gertrud Pascher danke ich für ihre gewissenhafte Mitarbeit.

Literatur.

Andersson-Kottö, I.: The genetics of ferns. Bibliogr. Genet. **8**, 269 (1931). — Bauer, Leopold: Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte und Physiologie der Plastiden von Laubmoosen. Flora (Jena) **36**, 30 (1942). — Beadle, G. W.: A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. Z. Vererbungslehre **63**, 195 (1932). — Biebl, R.: Untersuchungen an Rotalgen-Plastiden. Protoplasma (Berl.) **26**, 386 (1936). - Weitere Untersuchungen über die Wirkung der α-Strahlen auf die Pflanzenzelle. Protoplasma (Berl.) **35**, 187 (1940). — Über die gegensätzliche Wirkung der Spurenelemente Zink und Bor auf die Blattzellen von *Mnium rostratum*. Österr. bot. Z. **94**, 61 (1947). Correns-Wettstein: Nichtmendelnde Vererbung. Berlin 1937. — Dangeard, P.: Sur quelques modifications pathologiques des plastes et sur la mise en évidence d'une membrane plastidaire. C. r. Acad. Sci. Paris **213**, 884 (1941). — Döpp, W.: Gestaltung und Organbildung innerhalb der Gametophyten-Generation der Polypodiaceen unter besonderer Berücksichtigung genetischer Gesichtspunkte. Beitr. Biol. Pflanz. **24**, 201 (1936). — Doutreligne, J.: Notes sur la structure des chloroplastes. Proc. roy. Acad. Amsterdam **38**, 886 (1935). — Eyster, W. H.: Variations in size of plastids in genetic strains of *Zea mays*. Science (Lancaster, Pa.) **1**, 48 (1929). — Frey-Wyssling, A.: Submicroscopic morphology of protoplasm and its derivatives. New York u. Amsterdam 1948. — Frey-Wyssling, A., u. K. Mühlethaler: Über den Feinbau der Chlorophyllkörner. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **94**, 179 (1949). - Fröier, K.: The oat chlorophyll mutations *albovirescens*, *luteomaculata* and *tigrina-1*. Hereditas (Lund.) **34**, 60 (1948). — Geitler, L.: Über den Granabau der Plastiden. Planta (Berl.) **26**, 463 (1937). — Granick, S., and K. R. Porter: The structure of the spinach chloroplasts as interpreted with the electron-microscope. Amer. J. Bot. **34**, 545 (1947). — Gratzy-Wardenegg, E.: Degeneration von Chloroplasten an Farnprothallien. Protoplasma (Berl.) **14**, 52 (1931). Gustafsson, Å.: Über verschiedene Stabilität und Sensibilität der Chromosomen. Botanisk Not. (Lund.) **1936**, 488. — The plastid development in various types of chlorophyll mutations. Hereditas (Lund.) **28**, 483 (1942). — Heitz, E.: Untersuchungen über den Bau der Plastiden. I. Die gerichteten Chlorophyllscheiben der Chloroplasten. Planta (Berl.) **26**, 134 (1936). - Hruby, K.: Durch X-Strahlen hervorgerufene abnorme Plastiden. Soc. roy. Lettr. Sci. Bohême, Sec. XV **1935**. — Kaplan, R.: Über die Häufigkeit phänotypisch abweichender Pflanzen in der F_1-Generation aus verschieden gequollenen und bestrahlten Pollen von *Antirrhinum majus L.* Z. Vererbungslehre **77**, 568 (1939). — Kausche, G. A., u. H. Ruska: Zur Frage der Chloroplastenstruktur. Naturwiss. **28**, 303 (1940). — Knapp, E., u. R. Kaplan: Beeinflussung der Mutationsauslösung und anderer Wirkungen der Röntgenstrahlen bei *Antirrhinum majus* durch Veränderung des Quellungszustandes des zu bestrahlenden Samens. Z. Vererbungslehre **80**, 501 (1942). — Knudson, L.: Permanent changes of chloroplasts induced by X-rays in the gametophyte of *Polypodium aureum*. Bot. Gaz. **101**, 721 (1940). — Küster, E.: Die Pflanzenzelle. Jena 1935. — Die Pathologie der Plastiden. Berlin 1937. — Lärz, H.: Beiträge zur Pathologie der Chloroplasten. Flora (Jena) **35**, 319 (1942). — Lea, D. E.: Actions of radiations on living cells. Cambridge 1946. — Maier, Hilde: Spektrographie der durch Radiumstrahlen erregten Fluoreszenzstrahlen und Probleme des Wirkungsmechanismus der durchdringenden Strahlen in der Radiumtherapie. Radiol. Austr. **2**, 91 (1949). — Maier, Hilde, u. R. Maly: Nachweis der biologischen Wirkung der durch γ-Strahlen im Wasser erregten ultravioletten und sichtbaren Fluoreszenzstrahlung. Radiol. Austr. **3**, 1 (1950). — Maige, A : Conditiones physico-chimique de formation des vacuoles amylogènes dans les plastes. C. r. Acad. Sci. Paris **198**, 1537 (1934). — Menke, W.: Die Lamellarstruktur der Chloroplasten im ultravioletten

Licht. Naturwiss. **28**, 158 (1940). — Untersuchungen über den Feinbau des Protoplasmas mit dem Universal-Elektronenmikroskop. Protoplasma (Berl.) **35**, 115 (1940). — Menke, W., u. E. Koydl: Direkter Nachweis des lamellaren Feinbaues der Plastiden. Naturwiss. **27**, 29 (1939). — Metzner, P.: Über den Bau des Chloroplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. **55**, (16) (1937). — Möbius, M.: Über die Größe der Chloroplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. **38**, 224 (1920). — Preer, J.: A study of some properties of the cytoplasmic factor, „*Kappa*", in *Paramaecium aurelia* var. 2. Genetics **33**, 349 (1948). — De Rezende-Pinto, M. C.: Sur la structure hélicoïdale des chloroplastes. Portug. Acta Biol. A **2**, 112 (1948). — Sur la structure hélicoïdale des chloroplastes d'*Anthoceros laevis* L. Portug. Acta Biol. A **2**, 367 (1949). — Rottmann, W.: Versuche zur Gewinnung abweichender Formen mit Farnsporen und Gametophyten. Beitr. Biol. Pflanz. **27**, 1 (1939). — Schürhoff, N. P.: Die Plastiden. Berlin 1924. — Schwartz, Drew: The chlorophyll mutants of maize. Bot. Gaz. **111**, 123 (1949). — Schwarz, Fr.: Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Beitr. Biol. Pflanz. **5**, 1 (1892). — Strugger, S.: Weitere Untersuchungen über die Vitalfärbung der Plastiden mit Rhodaminen. Flora (Jena) N.F. **31**, 324 (1937). — Stubbe, H.: Genmutationen. Berlin 1938. — Wieler, A.: Über den Bau der Chlorophyllkörner. Protoplasma (Berl.) **26**, 295 (1936). — Yuasa, Akira: Studies in the cytology of Pteridophyta. 19. The structure of the chloroplast of some pteridophytic plants, observed on fixed and stained materials. Bot. Mag. Tokyo **54**, 215 (1940). — Studies in the cytology of Pteridophyta. 20. The process of the formation of starch grains in the chloroplast. Botanic. Mag. **54**, 338 (1940).

Roland Maly, Max Planck-Institut für Biologie
Abt. Melchers, Correnssstraße 1, Tübingen.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 479—484 (1951).

DIE HÄUFIGKEIT EXPERIMENTELL DURCH RÖNTGENSTRAHLEN UND CHEMIKALIEN INDUZIERTER CHROMOSOMENUMBAUTEN AUF DEN UNTERSCHEIDBAREN ANTEILEN DER OENOTHEREN-GENOME IN DER MEIOSIS.

Von

F. Oehlkers, G. Linnert und L. Stange.

(Eingegangen am 28. Oktober 1950.)

A. Einleitung.

Nachdem die Untersuchung der Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen deren Unspezifität deutlich erwiesen hat, ist zum weiteren Eindringen in die Fragen nach dem Mechanismus des Mutationsvorganges ein genauer Vergleich mit der Röntgenwirkung notwendig. Da wir als Testobjekt für unsere Chemikalienversuche vor allem die Meiosis von *Oenothera* verwandten, und da außerdem das Studium der Röntgeneinwirkung *auf die Meiosis* bisher in der Röntgenpathologie vernachlässigt wurde — im Gegensatz zu den zahlreichen Untersuchungen, die die Strahlenwirkung auf die Mitose zum Ziel hatten —, schien uns gerade diese Paralleluntersuchung sehr wesentlich. Wir haben also beide Agenzien unter den gleichen Bedingungen auf die Meiosis von *Oenothera* einwirken lassen, die damit direkt vergleichbar sind. Darüberhinaus ergeben sich Einblicke in die Bedeutung, welche beim Mutationsprozeß der Zelle als Ganzes zukommen, sowie den Vorgängen, die Mitosis und Meiosis unterscheiden.

Oenothera hat nur begrenzt unterscheidbare Chromosomen. So kann über den Verteilungsmodus von Mutationsvorgängen über das Genom allein durch die besondere Konfiguration der Paarung etwas ausgesagt werden. Die Frage, wieweit solche Umbauvorgänge auch noch von den Struktureigentümlichkeiten eines einzelnen Chromosoms abhängig sind, ist meist bei *Drosophila* an genetisch feststellbaren Mutationen oder an der Mitose untersucht worden. Unsere hier verwendete Methode erlaubt eine Beantwortung dieser Frage nicht. Hierfür verweisen wir auf die Befunde an den identifizierbaren Chromosomen des Pachytäns von *Solanum lycopersicum* (W. Gottschalk, Diss. 1950), die ebenfalls an unserem Institut ausgeführt wurde. Aus den Einsichten, die in beiden Arbeiten gewonnen wurden, läßt sich möglicherweise eine Weiterentwicklung des Gesamtproblems erreichen.

B. Material und Methode.

Chromosomentranslokationen, die durch Röntgenstrahlen sowie durch Applikation von Chemikalien im Pachytän der PMZ an den Oenotheren-Bastarden *Oenothera* (*suaveolens sulfurea* × *Hookeri* Freiburg) *flavens* · ^{h}*Hookeri* und *Oenothera* (*Hookeri* Freiburg × *suaveolens sulfurea*) ^{h}*Hookeri* · *flavens* ausgelöst wurden, kamen in der darauffolgenden Diakinese zur Untersuchung. Die Versuchspflanzen wurden in der früher schon beschriebenen Weise unter Wasser abgeschnitten und in die Lösungen gestellt, meist 6 Tage lang im Thermostaten bei 10° C gehalten und dann fixiert. Andere wurden im Wasser belassen und einer Röntgendosis ausgesetzt. Verwendet wurde eine Röntgenapparatur von Koch und Sterzel, Müller-Metallix-Röhre, 70 kV, 4 mA, 0,75 Al-Filter, Abstand 30 cm, 39,2 r/min, HWS 1,5 Al und Heliophos, 90 kV, 5 mA, 1 mm Al-Filter, Abstand 37 cm, 52,9 r/min, HWS 1,8 Al. Einzelne Röntgenversuche

wurden auch an Topfpflanzen durchgeführt. Um für das Vorhaben dieser Arbeit genügend große Zahlen zu erhalten, wurden alle Translokationen, die durch gleiche Agenzien in verschiedenen Versuchen entstanden waren, in dieser Arbeit zusammengefaßt. Die Beschreibung der sonstigen Wirkungen der hier behandelten Agenzien findet sich bei Oehlkers und Linnert (1950) und Stange (1950).

C. Versuchsergebnisse.

In einer früheren Arbeit wurde eine Methode beschrieben, mit deren Hilfe die Beteiligung wenigstens bestimmter Gruppen der morphologisch nicht unterscheidbaren Chromosomen von *Oenothera* an den reziproken Translokationen erfaßt werden kann (Oehlkers und Linnert 1949). Die Kombination von *flavens*- und *Hookeri*-Genom ergibt in der Diakinese auf Grund ihrer Endenanordnung einen Ring von 4 Chromosomen und 5 Bivalente. Da an Translokationen stets zwei Elemente beteiligt sind, lassen sich die zu erwartenden und auch gefundenen Translokationsfiguren in 5 unterscheidbare Gruppen aufteilen. Einmal in Translokationen innerhalb des Viererringes, wobei (Gruppe I) seine Aufteilung in zwei Bivalente oder in eine Achterfigur zustande kommt, oder (Gruppe II) seine Aufteilung in einen Ring von 3 und ein geschlossenes Univalent; daneben können auch chromatidale Translokationen und Chiasmen innerhalb des Ringes entstehen, wodurch sich die beiden Enden ein und desselben Chromosoms miteinander verbinden. Der Gruppe III wurden alle diejenigen Figuren zugeteilt, die den Ring mit einem Bivalent verbinden, der Gruppe IV die Translokationen innerhalb eines Bivalents, und endlich der Gruppe V alle solchen, die zwischen 2 Bivalenten auftreten. Dabei läßt sich kombinatorisch die theoretische Häufigkeit des Auftretens dieser 5 Gruppen unter Voraussetzung einer gleichmäßigen Verteilung der Brüche und Restitutionen über alle Chromosomen ermitteln, wobei man eine gesonderte Berechnung für chromosomale und chromatidale Translokationen vornehmen kann (vgl. Tabelle 1, aus Oehlkers und Linnert 1949). Der Vergleich der tatsächlich gefundenen Häufigkeiten mit den theoretisch erwarteten läßt erkennen, ob die Verteilung der Brüche und Restitutionen dem Zufall nach auf allen Chromosomen gleichmäßig erfolgt, oder ob gesetzmäßige Abweichungen konstatierbar sind.

Tabelle 1. *Erwartungswerte für die Verteilung der erkennbaren Neutranslokationen über die beiden Genome.* (Tabelle 3 aus Oehlkers und Linnert 1949.)

Gruppe	Chromosomen-translokationen		Chromatid-translokationen	
	Anzahl	%	Anzahl	%
I	4	1,17	8	2,20
II	8	2,34	16	4,39
III	160	46,78	160	43,96
IV	10	2,93	20	5,49
V	160	46,78	160	43,96
Unerkennbare Translokationen	(36)		(14)	
Summe	378		378	

Wir haben in der ersten Arbeit mit Hilfe dieser Methode die Art und Häufigkeit der durch das Äthylurethan-Kaliumchloridgemisch ausgelösten Translokationen untersucht. Hier vergleichen wir die Wirkung des Äthylurethans mit der von Röntgenstrahlen, Alkaloiden und anorganischen Salzen ebenfalls unter dem Gesichtspunkt der Beteiligung der verschiedenen Genomanteile an den Umbauten. Wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist, zeigt sich bei allen Einwirkungen eine Abweichung der Werte von der theoretischen Erwartung im gleichen Sinn wie bei der Äthylurethan-Einwirkung: es besteht eine Förderung der Gruppen I, II

Tabelle 2. *Die Verteilung der Translokationen über die Genome.*

Versuch		Gruppe I	II	III	IV	V	Summe der definierbaren	Undefinierbar	Gesamtsumme	P_{hom} gegenüber der theoretischen Erwartung	P_{hom} der Versuche untereinander
Äthylurethan + KCl	gef.	28	55	123	31	154	391	51	442	10^{-10}	0,16
	ber.	8,60	17,17	171,88	21,47	171,88					
	Diff.	+19,4	+37,83	−48,88	+10,47	−17,88					
150 r Leitgw.		6	15	44	7	55	127	20	147		
150 r Aqua destillata		1	4	6	5	14	30	6	36		
300 r Aqua destillata		3	8	25	10	27	13	13	86		
450 r Aqua destillata		8	19	24	13	37	101	17	118		
Topfpflanzen 300 r		8	10	11	2	17	48	2	50		
Topfpflanzen 450 r		3	2	11	6	8	30	6	36		
Summe	gef.	29	58	121	43	158	409	64	473	10^{-10}	0,36
	ber.	9,00	17,95	179,80	22,45	179,80					
	Diff.	+20	+40,05	−58,8	+20,55	−21,8					
Alkaloide	gef.	16	68	83	31	112	310	21	331	10^{-10}	0,26
	ber.	6,82	13,61	136,28	17,02	136,28					
	Diff.	+9,18	+54,39	−53,28	+13,98	−24,28					
$AlCl_3$		3	22	9	8	15	57	6	63		
sonstige Ionen		1	10	17	8	46	82	7	89		
	zus.	4	32	26	16	61	139	13	152	10^{-6}	0,16
	ber.	3,96	6,11	61,10	7,63	61,10					
	Diff.	+ 0,94	+25,89	−35,10	+ 8,37	−0.1					
Summe		77	213	353	121	485	1249				

und IV, eine Hemmung der Gruppen III und V. Wir trugen in Tabelle 2 als Erwartungswerte diejenigen ein, welche in der Annahme von chromatidalen Ereignissen berechnet wurden, die Erwartungszahlen für Chromosomentranslokationen sind noch stärker von unseren Befunden verschieden. Das bedeutet, wie früher schon erörtert, eine Bevorzugung der Translokationen innerhalb *einer*, eine Hemmung derjenigen zwischen *zwei verschiedenen* Konjugationsgruppen. Außerdem ergibt sich aus Tabelle 2, daß die Zahlenverhältnisse der durch die verschiedenen Agenzien ausgelösten Translokationen untereinander auf das Genaueste übereinstimmen.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Es ist nunmehr durch diese wie durch frühere Arbeiten (vgl. Oehlkers und Linnert 1949 sowie Linnert 1950) nachgewiesen, daß das ursprüngliche Ereignis, welches zur Entstehung anormaler Diakinesefiguren Anlaß gibt, nach Chemikalieneinwirkung ebenso wie durch Röntgenbestrahlung in Bruch und Wiederverheilen der Bruchflächen besteht. In der vorliegenden Arbeit konnte nun noch gezeigt werden, daß nicht nur die Art und Weise, sondern auch die Häufigkeit der möglichen Translokationen nach Einwirkung der so verschiedenartigen Agenzien, Strahlen wie Chemikalien, genau die gleiche ist. Es muß also nicht nur die Reaktion des Chromosomenfadens auf die verschiedenen Einwirkungen dieselbe sein, auch die übrigen Gegebenheiten in der Zelle müssen durch Röntgenstrahlen wie durch Chemikalien in gleicher Weise alteriert werden. So fanden wir einen deutlichen Effekt der Lagebeziehungen unter den Chromosomen: zwischen solchen, die infolge der Pachytänpaarung nahe beieinander liegen, den nichthomologen Schenkeln des Viererringes und der Bivalente, kommen besonders leicht Translokationen vor, so daß deren Häufigkeit angestiegen ist. Löst man nun aber die Translokationsfiguren in die zu ihrer Entstehung nötigen Chromosomenbrüche auf, bestimmt den Anteil der Brüche, die im Ring und auf den Bivalenten stattgefunden haben und vergleicht diese Zahlen mit dem theoretischen Verhältnis 4 : 10, dann erhält man ein Resultat, das eine weit größere Häufigkeit der Brüche im Ring anzeigt, als der in den Bivalenten liegenden (vgl. Tabelle 3). Diese scheinbare Erhöhung der Bruchrate auf den Chromosomen des Viererringes hält aber kritischer Überlegung nicht stand. Wir können an Hand der Translokationsfiguren nämlich nur diejenigen Brüche rekonstruieren, die durch Fremdrestitution manifest geworden sind, nicht aber alle diejenigen, welche zum Normalzustand restituiert worden sind. Da aber die Zahl dieser potentiellen Brüche unbekannt und außerdem anzunehmen ist, daß sie die der durch Bruchflächenrekombinationen sichtbar gewordenen weit übertrifft, läßt sich die größere Häufigkeit der sichtbar gewordenen Brüche im Ring ganz zwanglos auch dadurch erklären, daß *die durch die Kreuzkonjugation der Pachytänchromosomen bedingte Annäherung von 2 Paaren nicht-homologer Chromosomenschenkel die Fremdrestitution der potentiellen Brüche fördert.* Diese Erklärung wird auch noch dadurch bekräftigt, daß unter den beiden innerhalb des Ringes möglichen Kombinationen diejenigen der Gruppe II stärker gefördert sind als die der Gruppe I: erstere umfassen alle Kombinationen zwischen Schenkeln, die im Pachytänkreuz *nebeneinander*, letztere solche, die sich *gegenüber* liegen. Die Tatsache, daß Translokationen um so häufiger sind, je näher die beteiligten Elemente beieinander liegen, ist eine Bestätigung dieser Auslegung. Auch bliebe

unerklärbar, warum die Translokation innerhalb ein und desselben Bivalents gefördert ist, wollten wir die Abweichung von der Erwartung als eine erhöhte Bruchzahl im Viererring deuten. Es handelt sich bei diesem Phänomen also um einen Effekt der Lage der Chromosomen im Kernraum, der vor allem den 2. Vorgang des Mutationsgeschehens betreffen muß, während der Bruchvorgang selbst davon nicht beeinflußt werden kann. So ergibt sich also für die Analyse des Wirkungsmechanismus mutagener Agenzien die Forderung, die beiden Vorgänge des Mutationsprozesses, den Bruch und die Rekombination der Bruchflächen voneinander zu trennen. Bei all den von uns angewandten Mitteln findet sich eine Einwirkung auf den zweiten Vorgang, den der Bruchflächenrekombination, die aber ganz offenbar nicht von den Agenzien, sondern von der Zelle selbst bzw. von den normalen Vorgängen während des meiotischen Ablaufs ausgehen. Trotzdem ist die Möglichkeit einer experimentellen Einwirkung auf die Wiederverheilung potentieller Brüche im Auge zu behalten.

Tabelle 3. *Die Verteilung der umkombinierten Bruchflächen auf Ring und Bivalente.*

	Brüche auf den Bivalenten	Brüche im Viererring	Summe
Gefunden	1565	933	2498
Erwartet	1784,28	713,72	

$P_{hom} = 10^{-8}$

Da sich, wie oben gezeigt, die stärkere Beteiligung des Viererrings an Translokationen gegenüber den Bivalenten auf einfache Weise erklären läßt, ist die Annahme einer erhöhten Frequenz der potentiellen Brüche im Ring unwahrscheinlich. Bisher ließen sich Differenzen in der „Bruchfreudigkeit" nur innerhalb der verschiedenen Regionen eines Chromosoms: Euchromatin, Heterochromatin, Insertionsstelle (vgl. Gottschalk 1950 und die dort aufgeführte Literatur) nachweisen. Da aber die Oenotherenchromosomen sich in ihrer Längsstruktur nicht voneinander unterscheiden, ist eine Differenz hinsichtlich der potentiellen Brüche unter den *verschiedenen Chromosomen* nicht anzunehmen.

Wir haben schon früher (Oehlkers und Linnert 1950) darauf hingewiesen, daß zwischen der Wirkung von Röntgenstrahlen und der von Chemikalien kein Unterschied feststellbar ist, was die Art der Aberrationen und die Höhe der Gesamtmutationsrate betrifft. Die hiermit vorgelegten Befunde haben darüber hinaus gezeigt, daß nicht nur der Bruchvorgang, sondern auch offenbar der Modus der Rekombinationen bei allen angewandten Agenzien genau der gleiche ist. Eine so weitgehende Identität der Effekte macht es aber sehr wahrscheinlich, daß bei der Mutationsauslösung durch Strahlen und durch Chemikalien auch noch weiter zurückliegende Glieder in der Kausalkette der Veränderungen deren Ende als Chromosomenumbau in Erscheinung tritt, identisch sind. Mehr ist bei dem heutigen Stand der Ergebnisse nicht auszusagen. Indessen ist zu überlegen, ob nicht heute der Grundmechanismus des Vorganges im Chemismus der Zellen gesucht werden muß und ob nicht die aus der Trefftheorie der Strahlenwirkung abgeleitete Erklärungsweise einer direkten Aktion der Röntgenstrahlen an den Chromosomen dadurch eine Modifikation erfahren muß.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Der Vergleich der Häufigkeit der verschiedenen anormalen Konfigurationstypen in der Bastardkombination *flavens* und *hHookeri*, in welcher sich die Beteiligung der unterscheidbaren Genomanteile an den Mutationsvorgängen äußert,

zeigt, daß Strahlenwirkung und Chemikalienwirkung auch in dieser Beziehung identisch sind.

2. Es konnte nachgewiesen werden, daß die räumliche Anordnung der Chromosomen im Kernraum einen Einfluß auf die Rekombination der potentiellen Brüche und damit auf die Häufigkeit bestimmter Translokationen haben kann.

Literatur.

Gottschalk, W.: Untersuchungen an normalen und röntgenbestrahlten Pollenmutterzellen von *Solanum Lycopersicum*. Diss. Freiburg i. Br. 1950. — Linnert, G.: Die Einwirkung von Chemikalien auf die Meiosis. Z. Vererbungslehre **83**, 422 (1950). — Oehlkers, F., u. G. Linnert: Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 136 (1949). — Weitere Untersuchungen über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 429 (1950). — Stange, L.: Untersuchungen über den Einfluß von Begleitfaktoren auf die mutationsauslösende Wirkung von Röntgenstrahlen. Diss. Freiburg i. Br. 1950. — Z. Vererbungslehre **83**, 485 (1951).

Prof. Dr. F. Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestr. 9.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 485—512 (1951).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON BEGLEITFAKTOREN AUF DIE MUTATIONSAUSLÖSENDE WIRKUNG DER RÖNTGENSTRAHLEN*.

Von

LUISE STANGE.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. November 1950.)

Gliederung.

Seite

A. Einleitung 485
B. Material und Methode 486
C. Die Versuchsergebnisse 488
I. Röntgenbestrahlung ohne Begleitfaktoren 488
a) Allgemeine Beschreibung der Störungen 488
1. Die Analysierbarkeit der Zellen 488
2. Die Chromosomenaberrationen 489
b) Der Effekt verschiedener Röntgendosen 490
II. Kombination von Röntgenbestrahlung und Neutralsalzeinwirkung 491
a) Vorversuch: Dauer der Salzeinwirkung 491
b) Beschreibung der einzelnen Versuchsgruppen 492
c) Vergleich der Verklumpungstendenz der Chromosomen 495
d) Vergleich des Mutationsgeschehens 496
III. Kombination von Röntgenbestrahlung mit verschiedenen Temperaturen . . . 500
D. Diskussion 501
I. Allgemeine Reaktionen des Zellkernes 502
a) Die unspezifische physiologische Störung 502
b) Die Verklumpung der Chromosomen 502
c) Das Chromosomenverhalten nach KSCN-Einwirkung 503
d) Die schwere Kernstörung nach LiCl-Einwirkung 504
II. Die Auslösung von Chromosomenmutationen 504
a) Dosisabhängigkeit 504
b) Zusammenwirken von Röntgenstrahlen und Neutralsalzen 506
c) Die Wirkung von Röntgenstrahlen bei verschiedenen Temperaturen . . . 508
E. Zusammenfassung der Ergebnisse 510
Literatur 510

A. Einleitung.

Nach der Entdeckung der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgenstrahlen standen zunächst für die Frage nach dem Entstehungsmechanismus genetischer Strukturveränderungen die sog. Genmutationen im Mittelpunkt des Interesses. Für die Interpretation dieser Gruppe von Mutationen, die ursprünglich nur nach ihrem phänotypischen Effekte abgegrenzt war, wurde hauptsächlich auf Grund von Versuchen mit verschiedener Quantität und Qualität der angewendeten Strahlen die Treffertheorie der biologischen Strahlenwirkung herangezogen und weiter ausgebaut. Nachdem sich jedoch herausstellte, daß eine scharfe Unterscheidung zwischen „Genmutation" und Chromosomenmutationen nicht

* Dissertation der nat.-math. Fakultät der Universität Freiburg i. Br. Ich danke meinem Lehrer, Herrn Professor Dr. F. OEHLKERS, für die Stellung der Aufgabe und die Unterstützung im Verlauf der Arbeit.

möglich und der Begriff der „Genmutation" damit kritisch geworden ist, sind die Chromosomenmutationen mehr in den Vordergrund gerückt. Auch auf sie wurde von biophysikalischer Seite aus die Treffertheorie angewendet. Bei näherer Analyse zeigte sich aber, daß die zugrunde liegenden Erscheinungen komplexer Natur sind, indem auf das primär induzierende Ereignis eine Reaktion der lebenden Strukturen erfolgt, deren Endergebnis in recht mannigfaltiger Form beobachtet wird. Es konnte darum ein Beachten des primären Ereignisses allein, wie es durch die Treffertheorie geschieht, nicht genügen, sondern daneben mußte versucht werden, Einblick in die anschließenden Folgereaktionen zu gewinnen. Für ein solches Bemühen kann eine Kombination der Bestrahlung mit weiteren das Substrat beeinflussenden Faktoren sinnvoll sein.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Röntgenbestrahlung mit einer zusätzlichen Einwirkung von Neutralsalzen auf die zu bestrahlenden Zellen kombiniert. Für die Wahl der Neutralsalze waren 2 Gesichtspunkte maßgebend: einerseits hatte OEHLKERS (1943) in seinen Untersuchungen über die Auslösung von Chromosomenmutationen durch Chemikalien als wirksamste Substanz ein Gemisch von Äthylurethan mit dem für sich allein nicht mutagenen Kaliumchlorid gefunden. Es ergab sich daraus die Frage, ob das Kaliumchlorid ganz allgemein eine Mutationsauslösung erleichtere, so daß die Untersuchung der kombinierten Wirkung von KCl und Röntgenstrahlen naheliegend war. Andererseits kann man sich heute auf Grund kolloidchemischer und zellphysiologischer Arbeiten, die zur Aufstellung von Ionenreihen führten, einige Vorstellungen über die Wirkungen der Neutralsalze auf das Plasma machen. Da aus versuchstechnischen Gründen nur eine kleine Zahl von Salzen untersucht werden konnte, wurden möglichst weit voneinander entfernt stehende Glieder der kolloidchemischen Ionenreihen ausgewählt. Als weiterer Begleitfaktor zur Röntgenbestrahlung wurde in einer kleineren Versuchsgruppe der Einfluß verschiedener Temperaturen untersucht, da aus bereits vorliegenden Ergebnissen ähnlicher Unternehmungen hervorgeht, daß die auf die Induktion folgenden Reaktionen temperaturabhängig sind.

Um die Wirkung der jeweiligen Versuchsbedingungen möglichst quantitativ zu erfassen und störende sekundäre Reaktionen weitgehend auszuschalten, muß die Untersuchung an der direkt auf die Bestrahlung folgenden Zellteilung erfolgen. Um einen Vergleich mit Befunden aus dem hiesigen Institut zu ermöglichen, wurde dazu die Meiosis ausgewählt. Dieser Kernteilungsvorgang bietet den Vorteil, daß sich in ihm stattgefundene Chromosomenumbauten durch ein verändertes Paarungsverhalten leicht zu erkennen geben.

B. Material und Methode.

Als Versuchspflanze wurde der Bastard *Oenothera (suaveolens sulfurea* × *Hookeri) flavens* · ^{h}*Hookeri* verwendet, der bereits in einer Reihe von Untersuchungen aus dem hiesigen Institute als Versuchsobjekt gedient hatte (OEHLKERS 1943, 1946; OEHLKERS und LINNERT 1949). Vorversuche im Sommer 1947 führten zur Bestimmung der günstigsten Röntgendosis. Die Hauptversuche wurden im Juli und August 1948 und Ende Juli 1949 durchgeführt. Die Vorbehandlung der Pflanzen erfolgte in der von OEHLKERS (1943) angegebenen Weise: Im Beginn der Blüte stehende Hauptinfloreszenzen wurden morgens zwischen 4 und 6 Uhr auf dem Versuchsfelde geschnitten, unter Wasser auf 40 cm Länge gekürzt und in 500 cm^3 Erlenmeyer-Kolben (Duranglas) mit Wasser oder mit den betreffenden Lösungen in die

Kältekammer des Institutes gestellt (Temperatur konstant + 10° C bzw. + 20° C, Beleuchtung durch wassergekühlte 500 W Lampe). Mit Ausnahme der Temperaturversuche, die mit Leitungswasser durchgeführt wurden, wurde in sämtlichen Versuchen Aqua bidest. (2. Destillation über Glas) verwendet. Die Versuchslösungen wurden $^1/_{10}$ molar hergestellt von folgenden Salzen (sämtlich Merck-Präparate):

LiCl	Erg. B. 6	$MgCl_2$ p. a.	KSCN p. a.
KCl	p. a.	$CaCl_2$ p. a.	K_2SO_4 p. a.
CsCl	—		

Die Aufsteigegeschwindigkeit zweier Salze, des LiCl und des CsCl, mit dem Transpirationsstrom wurde folgendermaßen bestimmt: In gleichartig vorbereiteten Versuchen wurde in stündlichen Abständen nach dem Einstellen in die Kältekammer jeweils eine Pflanze aus Erlenmeyer-Kolben genommen, in dem sich m/10 LiCl-Lösung oder m/10 CsCl-Lösung befand. Vom 3 cm langen Sproßgipfel dieser Pflanzen wurden Knospen und Sproßachse getrennt, für das LiCl in einem Wiederholungsversuch die Knospen noch weiter in Antheren und „Knospenrest" unterteilt, in Brenntiegeln im Heraeus-Thermostaten bei 210° C verkohlt. Die verkohlte Substanz wurde dann mit Glasstäbchen pulverisiert und mit Salzsäure p. a. im Bunsenspektroskop analysiert.

24 Std nach Einbringen in die Kältekammer wurden die Pflanzen geröntgt. Zu diesem Zwecke mußten sie in einen Raum von 18—20° C gebracht werden. Der Aufenthalt in diesem Raum dauerte je nach Bestrahlungsdosis etwa 5—16 min. Anschließend wurden die Pflanzen sofort wieder in die Kältekammer zurückgestellt und die der Salzversuche in Kolben mit Aqua bidest. umgesteckt. — Die Pflanzen der Temperaturversuche wurden bereits nach 12 Std geröntgt. Um in diesen Versuchen einen Schock durch Temperaturwechsel auf alle Fälle zu vermeiden, wurden die Infloreszenzen für die Bestrahlung in 45 cm hohe Standzylinder mit Wasser der entsprechenden Temperatur so gesteckt, daß die Sproßspitze eben die Oberfläche des Wassers erreichte. Der dadurch entstehende Fehler in der Dosierung ist minimal und für alle Versuche gleich. Die Kontrollpflanzen wurden in der gleichen Weise behandelt. Der höchstens 10 min dauernde Aufenthalt unter Wasser dürfte den Pflanzen kaum geschadet haben. — Um eine mögliche Beeinflussung der reinen Röntgenversuche durch die Kältekammerbedingungen kontrollieren zu können, wurden außer den abgeschnittenen Infloreszenzen noch 70 Topfpflanzen bestrahlt, die vor- und nachher im Freiland standen.

Da während der Versuchszeit die Röntgenröhre gewechselt werden mußte, sind die Versuche mit 2 verschiedenen Röhren durchgeführt worden. Beide Male wurden aber Strahlen mit genau der gleichen HWS verwendet. Apparatur Koch und Sterzel.

Die Bestrahlungsbedingungen im Juli 1948 waren folgende: Müller-Metallix-Röhre, 70 kV, 4 mA, 0,75 Al Filter, Abstand Focus-Bestrahlungspunkt 30 cm, 39,2 r/min, *HWS 1,5 Al.*

In allen folgenden Versuchen: Radiologie-Röhre Protecta 6 kW, 55 kV, 4 mA, 0,5 Al Filter, Abstand 25 cm, 28,5 r/min, *HWS* 1,5 *Al.*

In Kontrollversuchen ergab sich keinerlei Differenz zwischen den beiden verwendeten Bestrahlungsbedingungen.

Bestrahlungsdosen: 150 r, 300 r, 450 r. In den Temperaturversuchen 300 r.

Da es nicht möglich war, den Dosiszulauf gleichzeitig mit einem Dosimeter zu messen, die benutzte Röntgenanlage aber keine Feinregulierung für die Röhrenspannung besaß, wurden Netzspannungsschwankungen durch geringfügige Änderung der Bestrahlungszeit an Hand einer Eichkurve ausgeglichen. Röhrenspannung und Bestrahlungszeit wurden für jeden Versuch protokolliert, um spätere Nachprüfungen zu ermöglichen.

Am 5. Tage nach der Bestrahlung zwischen 7 und 10 Uhr morgens wurden die Knospen der in Frage kommenden Größe in Alkohol 96% — Eisessig 2:1 fixiert. In den Temperaturversuchen erfolgte die Fixierung der Knospen wegen der Differenz in der Ablaufgeschwindigkeit der Meiosis bei 10° und 20° C folgendermaßen:

20°-Versuche: am 4. und 5. Tage nach der Bestrahlung,
10°-Versuche: am 5. und 6. Tage nach der Bestrahlung.

Zur näherungsweisen Bestimmung der Differenzen in der Ablaufgeschwindigkeit der Meiosis bei 10° und 20° wurde anschließend an die Bestrahlung der Pflanzen in den Kelch einer Reihe von Knospen mit einer feinen Lanzettnadel ein kleiner Fensterflügel geschnitten, der nach

Entnahme von 1—2 Antheren zur Fixierung wieder vorsichtig angedrückt wurde. Die so behandelten Knospen wurden am 5. Tage nach der Bestrahlung einzeln fixiert. — Die Topfpflanzen wurden der Temperatur im Freiland entsprechend 4 Tage nach der Bestrahlung fixiert.

Zur zytologischen Auswertung wurden die Knospen in Eisenkarmin schwach überfärbt und anschließend mit 50% Essigsäure differenziert. Die einzelnen Antheren wurden dann in 50% Essigsäure gekocht und auf die übliche Art und Weise Quetschpräparate hergestellt. Fanden sich in der Anthere Pollenmutterzellen im Diakinesestadium, dem einzigen Stadium bei *Oenothera*, aus dem die Paarungsverhältnisse sämtlicher Chromosomen erschlossen werden können, so wurden alle Zellen mit vollständig analysierbarer Chromosomenkonfiguration schematisch gezeichnet. Die normale Konfiguration des verwendeten Oenotherenbastardes in der Diakinese ist ein Viererring und 5 Bivalente. Die am 6. Tage nach Versuchsbeginn in diesem Stadium fixierten Zellen hatte die Bestrahlung im prämeiotischen Zustande bzw. Vorleptotän getroffen (vgl. OEHLKERS 1943). Eine Auswahl von Zellen wurde photographiert.

Mikroskopische Optik: Zeiß binokulares Stativ, Ölimmersion 100×, Okulare 15×, mikrophotographische Einrichtung von Zeiß.

Die statistische Auswertung der Versuche erfolgte mit Hilfe des Homogenitätstestes (χ^2-Tabelle nach FISHER) und für die Salzversuche zusätzlich mit Hilfe der Varianzanalyse unter Verwendung der Tabellen von POST (1946).

C. Die Versuchsergebnisse.

I. Röntgenbestrahlung ohne Begleitfaktoren.

Als Grundlage für die Kombinationsversuche wurde zunächst die reine Röntgenwirkung auf die Meiosis des verwendeten Oenotherenbastardes untersucht. Zu diesem Zwecke wurden abgeschnittene Infloreszenzen aus der Kältekammer mit 450 r, 300 r und 150 r bestrahlt. In einem Vergleichsversuch erhielten Topfpflanzen, die vor und nach der Bestrahlung im Freiland standen, Dosen von 450 r und 300 r.

a) Allgemeine Beschreibung der Störungen.

1. Die Analysierbarkeit der Zellen. Bei der zytologischen Auswertung ergab sich zwischen den verschiedenen Versuchen ein deutlicher Unterschied im Hinblick auf die Analysierbarkeit der Diakinesezellen. Es handelte sich dabei um ein normalerweise nicht in der Diakinese beobachtetes Chromosomenverhalten, von dem im weiteren Kernteilungsablauf keine Spuren mehr nachzuweisen waren.

In der Meiosis von *Oenothera* zeigen die Chromosomen, besonders ihre heterochromatischen Abschnitte, in den verschiedenen Prophasestadien eine verschieden starke Tendenz, sich zusammenzulagern und miteinander zu verkleben (vgl. MARQUARDT 1937). Dieses gilt vornehmlich für das Diplotän, in dem die Chromosomen zu einem unentwirrbaren Knäuel oder Klumpen zusammengeballt liegen und das aus diesem Grunde in der Oenotherenzytologie auch als „second contraction" bezeichnet wurde. Daß es sich dabei wenigstens zum Teil um eine Artefaktbildung handelt, geht daraus hervor, daß das Diplotän in Gentianaviolett-Präparaten meist übersichtlicher ist. Nach verschiedenartigen Einwirkungen werden auch noch in der daran anschließenden Diakinese Zellen angetroffen, die nur an einzelnen frei liegenden Bivalenten oder aus dem Knäuel herausragenden Chromosomen und, da in zusammenliegenden Pollenmutterzellen der Stadienablauf synchron erfolgt, auch an benachbarten analysierbaren Zellen als Diakinesestadien erkannt werden können. In analysierbaren Zellen ist die Verklebungstendenz gelegentlich durch Matrixbrücken zwischen 2 oder mehreren Chromosomen angedeutet. Im Vergleich mit den Freilandversuchen traten diese Erscheinungen in den Kältekammerversuchen bei 10° C in verstärktem Maße auf. Weiterhin wurde es bei Bestrahlungsversuchen mit steigender Dosis immer schwieriger, trotz großer Anzahl der verwendeten Pflanzen genug analysierbare Diakinesezellen zu finden. Diese Verhältnisse kommen am besten zum Ausdruck in der durchschnittlichen Zahl analysierter Zellen je An-

there in den daraufhin vergleichbaren Versuchen (Tabelle 1, letzte Spalte). Der beschriebene Bestrahlungseffekt war jedoch vorübergehender Natur, denn in den auf die Diakinese folgenden Stadien war in dieser Hinsicht im Zellbild kein Unterschied zu der ungeröntgten Kontrolle festzustellen.

Die Tatsache, daß die Verklumpung der Chromosomen als Folge eines Eingriffs nur in der Diakinese auftritt und damit als eine Ausdehnung des normalerweise artifiziell verklumpten Diplotäns erscheint, legt den Schluß nahe, daß es sich dabei um eine durch verschiedene Einwirkungen hervorgerufene Fixie-

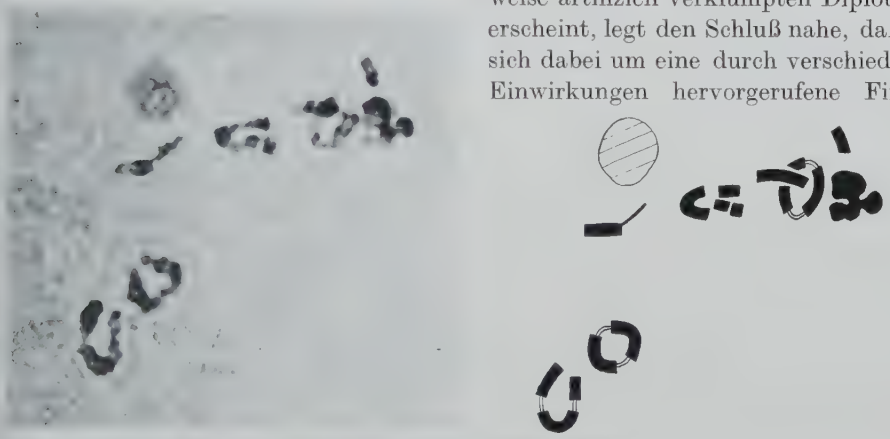


Abb. 1. Chromosomale und chromatidale Fragmentationen (Freiland 450 r, 14. 8.). Vergr. 2500 mal.

rungslabilität im Diakinesestadium handelt. Auf alle Fälle muß diese Veränderung abgetrennt werden von der unzpezifischen physiologischen Störung (Marquardt 1948, 1949), auf die im folgenden noch einzugehen sein wird.

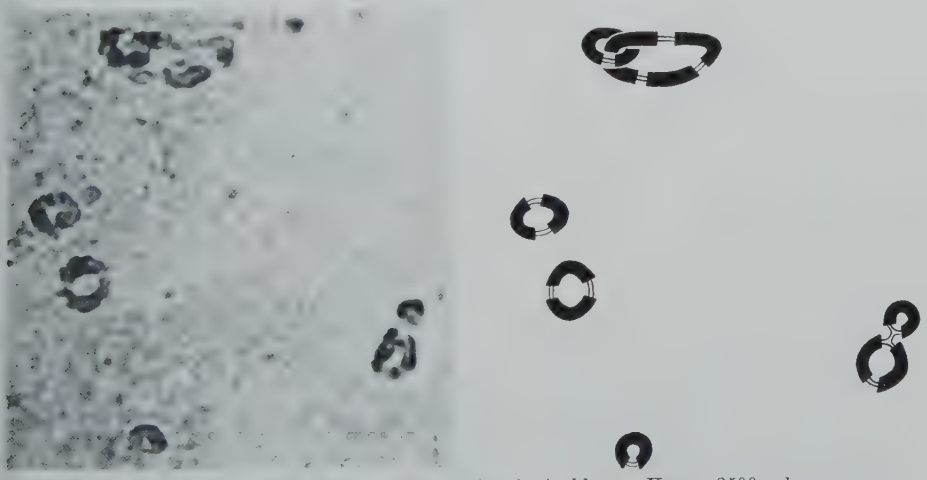


Abb. 2. Translokation nach Röntgenbestrahlung. Vergr. 2500mal.

2. Die Chromosomenaberrationen. Einen bleibenden Effekt der Bestrahlung stellten allein die Chromosomenaberrationen dar. Von diesen konnten die Fragmentationen (Abb. 1) und die Translokationen (Abb. 2), also Umbauten zwischen 2 Chromoomen, weitgehend erfaßt werden, während Umbauten innerhalb eines Chromosoms (Inversionen, Duplikationen) infolge der wenig ausgeprägten Differenzierung der Oenotherenchromosomen der Beobachtung entgingen.

Die Fragmentationen traten in verschiedener Abstufung auf: neben chromosomalen, also den ganzen Chromosomenquerschnitt betreffenden Brüchen fanden sich solche, bei denen nur in einem Chromatid der Längszusammenhalt deutlich unterbrochen war. Nicht mehr als Fragmente anzusprechen waren Einschnürungen oder Verzerrungen der Chromosomen, von denen die Chromonemen unberührt geblieben waren. Das gleiche gilt für die nur selten und auch in ungeröntgten Versuchen gefundenen achromatischen Stellen und hellen Segmente („half-starvation" Darlingtons), bei denen Chromosomenschenkel durch eine bzw. mehrere scharf herausgeschnittene ungefärbte Lücken scheinbar unterbrochen waren. Bei der Auszählung wurden nur solche Chromosomen als fragmentiert bezeichnet, bei denen eine Aufhebung des Längszusammenhaltes über ihren ganzen Querschnitt oder in einem Chromatid eindeutig festzustellen war.

Beim Vergleich der Röntgenversuche im Hinblick auf die Häufigkeit der ausgelösten Chromosomenaberrationen (Tabelle 1) fällt zunächst auf, daß die Werte für die *Freilandversuche,* die eine Dosis von 450 r erhielten, im stärksten Maße differieren. Während die Versuche, die am 18. 8. und 24. 7. fixiert wurden, eine Übereinstimmung mit den Kältekammerversuchen im Prozentsatz der Aberrationen zeigen, weisen die Versuche vom 14. 8. und 15. 8. eine weit höhere Anzahl Aberrationen auf ($P_{hom} < 0{,}01$). Da es sich hierbei, wie aus dem Protokoll hervorgeht, nicht um eine fehlerhafte Dosierung handelt, können nur die verschiedenen Versuchstage dafür verantwortlich gemacht werden.

Bei der Durchsicht der Wetterstatistik zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den in Frage kommenden Tagen, der am deutlichsten in den durchschnittlichen Tagestemperaturmaxima zum Ausdruck kommt: Für den am 24. 7. fixierten Versuch betrug es 27,8° C, für den vom 18. 8. 23,6° C und für die beiden herausfallenden Versuche 19,3 bzw. 18,4° C, die also an für den August ungewöhnlich kalten Tagen durchgeführt wurden. Es ist anzunehmen, daß dadurch der Ablauf der Meiosis verlangsamt worden ist, und sich damit die in diesen Versuchen als Diakinese fixierten Zellen zum Zeitpunkt der Bestrahlung bereits in vorgeschrittenem Prophasestadium befanden. Für diese Erklärung spricht auch die Art der Schädigung in den beiden abweichenden Versuchen, die zum weitaus größten Teil aus Fragmentation besteht (Abb. 1). Ein großer Teil der Zellen konnte wegen zu starker Fragmentation der Chromosomen nicht analysiert werden. Im Protokoll sind weiterhin Zellen mit stark verzerrten Chromosomen und Matrixverklebungen vermerkt. Es handelt sich hier also um die unspezifische physiologische Störung (Marquardt 1948), die bei der Bestrahlung bereits in Teilung befindlicher Zellen aufzutreten pflegt. Die Freilandversuche demonstrieren damit erneut die Notwendigkeit, die Versuche unter konstanten, streng vergleichbaren Bedingungen durchzuführen. Bei der weiteren quantitativen Auswertung bleiben sie unberücksichtigt.

b) Der Effekt verschiedener Röntgendosen.

Für einen quantitativen Vergleich des Effekts verschiedener Röntgendosen ist Tabelle 1 heranzuziehen. In ihr ist zunächst die Zahl der Zellen mit Aberrationen in Prozent der analysierten Zellen aufgeführt, um einen Vergleich mit den Befunden von Oehlkers (1943) zu ermöglichen. Da jedoch in den Röntgenversuchen auch Zellen mit mehr als einer Aberration gefunden wurden, ist weiterhin die Zahl der gebrochenen Chromosomen in Prozent der analysierten angegeben. Einer Translokation liegen stets 2 gebrochene Chromosomen zugrunde, einer Fragmentation dagegen nur eines.

Als erstes ist zu beachten, daß die ungeröntgte H_2O-Kontrolle eine unerwartet hohe Mutationsrate aufweist. Ob dieses Verhalten ausschließlich auf die Kältekammerbedingungen zurückgeführt werden muß, kann nicht entschieden werden, da keine ungeröntgte Freilandkontrolle untersucht wurde. Beim Zeichnen der noch zu beschreibenden Kurven für die Röntgenversuche wurde diese Mutationsrate in Abzug gebracht.

Die Tabelle zeigt weiterhin eine mit zunehmender Röntgendosis ansteigende Aberrationshäufigkeit. Diese kommt am besten in der graphischen Darstellung der empirischen Kurve (Abb. 3, ausgezogene Kurve) zum Ausdruck, in der die Anzahl gebrochener Chromosomen in Prozent der analysierten gegen die Dosis aufgetragen ist. Bei den verwendeten Röntgendosen wurden keine Chromosomen mit mehr als einem Bruch gefunden. Der Verlauf der Kurve legt den Schluß auf das Vorliegen einer quadratischen Proportionalität nahe. Für eine tiefer gehende Analyse wurden die Aberrationen in Translokationen und Fragmentationen aufgegliedert und die Dosisproportionalität für beide getrennt näher untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die gefundenen Werte, wiederum auf die Chromosomen bezogen, in den Abb. 4 und 5 mit theoretischen Trefferkurven verglichen. Es zeigt sich (Abb. 4), daß sich die Werte für translocierte Chromosomen einer theoretischen 2-Trefferkurve anpassen. Eine genauere Bestimmung der Dosisproportionalität durch Angabe des Dosisexponenten konnte im vorliegenden Fall nicht sinnvoll erscheinen, da nur 3 Kurvenpunkte experimentell bestimmt wurden. Die Fragmentationen (Abb. 5) sind trotz des großen mittleren Fehlers am besten durch Zugrundelegen einer 1-Trefferkurve zu interpretieren. Der sehr niedrig liegende Wert für die fragmentierten Chromosomen bei 450 r scheint eine Abflachung der Kurve anzudeuten, eine sichere Entscheidung könnte durch Versuche mit höheren Dosen getroffen werden. Die Verteilung der aufgefundenen Translokationen über die Genome wurde von Oehlkers, Linnert und Stange 1950 an umfangreichem Material ermittelt.

Tabelle 1. *Die Dosisabhängigkeit.*

Versuch	Analysierte Zellen	Zellen mit Aberration		Analysierte Chromosomen	Gebrochene Chromosomen		Translocierte Chromosomen		Fragmentierte Chromosomen		Durchschnittliche Anzahl analysierter Zellen je Antherе
			%			%		%		%	
H_2O	200	9	4,5 ± 1,48	2800	17	0,61 ± 0,15	16	0,57 ± 0,14	1	0,036 ± 0,036	
H_2O + 150 r	400	43	10,75 ± 1,55	5600	79	1,41 ± 0,16	71	1,27 ± 0,15	8	0,143 ± 0,051	
H_2O + 300 r	587	107	18,23 ± 1,59	8218	202	2,46 ± 0,17	171	2,08 ± 0,16	31	0,377 ± 0,068	9
H_2O + 450 r	400	119	29,75 ± 2,29	5600	236	4,21 ± 0,27	220	3,93 ± 0,26	16	0,286 ± 0,071	8
Topfpflanzen + 300 r	307	58	18,89 ± 2,24	4298	113	2,63 ± 0,24	100	2,33 ± 0,23	13	0,303 ± 0,084	34
Topfpflanzen + 450 r 18. 8. und 24. 7.	149	51	34,23 ± 3,90	2086	91	4,36 ± 0,45	72	3,45 ± 0,40	19	0,911 ± 0,208	15
Topfpflanzen + 450 r 14. 8. und 15. 8.	134	101	75,37 ± 14,17	1876	228	12,15 ± 0,75	58	3,09 ± 0,40	170	9,062 ± 0,664	

II. Kombination von Röntgenbestrahlung und Neutralsalzeinwirkung.

a) Vorversuch: Dauer der Salzeinwirkung.

Für die Durchführung der Versuche, in denen die Röntgenbestrahlung mit der Ein-

wirkung von Neutralsalzen kombiniert werden sollte, war es wichtig zu wissen, wie lange die Zellen vor der Bestrahlung unter der Einwirkung der verschiedenen Ionen gestanden hatten. Es galt darum, den Zeitpunkt zu bestimmen, zu dem die mit dem Transpirationsstrom aufsteigenden Salze die Pollenmutterzellen erreicht hatten. Hierzu wurden die beiden spektroskopisch leicht nachweisbaren Alkalimetalle Lithium und Caesium herangezogen,

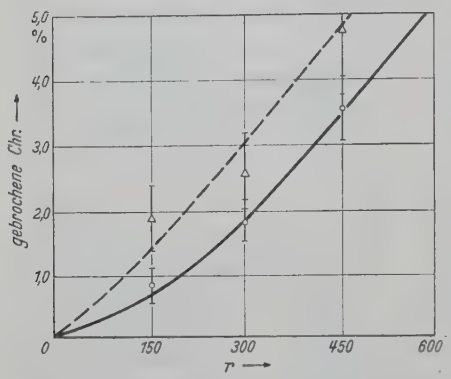


Abb. 3. Dosiseffektkurven für H_2O-Versuche ——— und KCl-Versuche — — — (Angabe des 2fachen mittleren Fehlers).

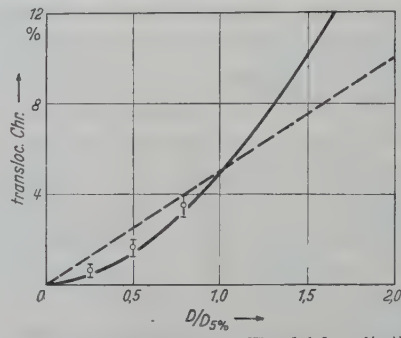


Abb. 4. Translokationen. Vergleich mit theoretischen Trefferkurven. ——— $y = (1-e^{-kD})^2$; — — — $y = 1-e^{-kD}$ (Angabe des 2fachen mittleren Fehlers).

die sich im Gegensatz zum Kalium und Calcium nicht in nachweisbaren Mengen in dem verwendeten Oenotherenbastard finden. Ihre Nachweisgrenzen unter den verwendeten Untersuchungsbedingungen wurden mit Lösungen bekannter Konzentration, denen unbehandelte Pflanzenkohle zugesetzt war, empirisch ermittelt. Es ergab sich, daß das Caesium noch in m/1000 Lösung nachzuweisen war, das Lithium hingegen in m/4000 Lösung, also in 4mal stärkerer Verdünnung. Die Ergebnisse der spektroskopischen Untersuchung der Versuchspflanzen, deren Methode bereits beschrieben wurde, sind in Tabelle 2 dargestellt. Dabei ist die verschiedene Deutlichkeit des spektroskopischen Nachweises mit angegeben worden. In dem in der Tabelle an erster Stelle aufgeführten Versuch zeigen sich Schwankungen unter den aufeinanderfolgenden Bestimmungen, die auf die Variabilität unter den einzelnen Versuchspflanzen zurückzuführen sind. Es konnte aber nur auf den angenäherten Zeitpunkt ankommen, da das Eintreffen der Salze an den zu behandelnden Zellen doch nicht verfolgt werden konnte. Die Tabelle zeigt, daß das Caesium erst 8 Std später als das Lithium nachzuweisen war. Diese Differenz ist durch die verschiedene Nachweisbarkeit der beiden Elemente zu erklären. Somit kann angenommen werden, daß das LiCl und CsCl und damit auch die anderen verwendeten Salze etwa zum gleichen Zeitpunkt, 4—5 Std nach dem Einstellen in die Lösungen, in den Antheren eintreffen. Trotz der Schwierigkeiten, die an der Methode haften, war mit Sicherheit anzunehmen, daß bei einer Röntgenbestrahlung 24 Std nach dem Einstellen in die Lösungen genügend Zeit verstrichen war, in der die Salze ihre Wirkung auf die zu bestrahlenden Zellen entfalten konnten.

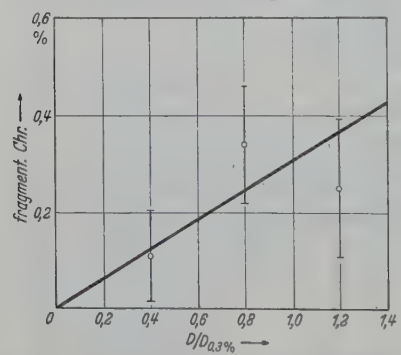


Abb. 5. Fragmente. Vergleich mit theoretischer Trefferkurve. ——— $y = 1 - e^{-kD}$ (Angabe des 2fachen mittleren Fehlers).

b) Beschreibung der einzelnen Versuchsgruppen.

Bei der Darstellung der Ergebnisse der Neutralsalzversuche ist es am zweckmäßigsten, zunächst eine Beschreibung für die einzelnen Salze getrennt zu geben, wobei vor allen Dingen Schäden an den Chromosomen berücksichtigt werden,

Tabelle 2. *Das Aufsteigen der Salze. Spektroskopischer Nachweis.*

Versuch nach Stunden	Lithium; Kältekammer 10° C			Lithium; Kältekammer 10° C		Caesium; Kältekammer 10° C	
	Sproßachse	„Knospenrest"	Antheren	Sproßachse	Knospen	Sproßachse	Knospen
1	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—
3	schwach	schwach	—	schwach	—	—	—
4	Spur	—	—	stark	schwach	—	—
5	stark	schwach	Spur	„	stark	—	—
6	„	schwach	—	„	„	—	—
7	„	stark	Spur	„	„	—	—
8	„	„	Spur	„	„	—	—
9	„	„	Spur	„	„	—	—
10	„	„	schwach	„	„	—	—
11	„	„	stark	„	„	Spur	—
12	„	„	schwach	„	„	schwach	schwach
24	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark

die auf die Salzeinwirkung zurückzuführen sind. Sie traten sowohl in den mit verschiedenen Röntgendosen kombinierten Versuchen als auch in den jeweiligen Salzkontrollen auf. Daran anschließend soll ein Vergleich der Einzelversuche vor allem im Hinblick auf die in diesem Zusammenhang am meisten interessierende Auslösung von Chromosomenmutationen gezogen werden.

H_2O-Kontrollen. Die H_2O-Kontrollen sind schon bei der Besprechung der reinen Röntgenversuche beschrieben worden. Es wurde dort bereits auf die durch die Kältekammerbedingungen verstärkte Verklumpungstendenz hingewiesen. Die Chromosomen sehen im allgemeinen, durch die quellende Wirkung der Eisenkarmintechnik bedingt, dick und aufgelockert aus. Daneben ist ihr Aussehen normalerweise davon abhängig, ob eine frühe oder eine späte Diakinese betrachtet wird. Während der Unterschied zwischen Euchromatin und Heterochromatin zu Beginn der Diakinese färberisch deutlich hervortritt, nimmt er mit fortschreitender Kontraktion immer mehr ab. Der Nukleolus, der stets mitgezeichnet wurde, zeigte eine recht variable Ausbildung. Bei gleichmäßiger Färbung war meist ein durch einen weißen Kreis abgesetzter Endonukleolus zu erkennen. In anderen Fällen war nur eine feine bis sehr grobe Blasenstruktur ausgeprägt. Neben einem großen Nukleolus waren gewöhnlich ein oder mehrere kleine ausgebildet. Noch während der Diakinese erfolgte die Auflösung des Nukleolus. Die Nukleolarsubstanz konnte dabei in viele färbbare Körnchen verteilt sein, die sich gelegentlich an der Oberfläche der Chromosomen konzentrierten. Die gleiche Vielfalt im Aussehen des Nukleolus fand sich auch in sämtlichen anderen Versuchen: eine Beziehung zu bestimmten Versuchsbedingungen konnte nicht konstatiert werden.

LiCl-Versuche. Während die abgeschnittenen Infloreszenzen im allgemeinen den 6 Tage langen Aufenthalt in der Kältekammer ohne äußere Anzeichen einer Schädigung überdauerten, waren bei der Fixierung der LiCl-Versuche die Knospen schlaff und die Brakteen welk und an den Spitzen gebräunt. Um so überraschender war daher, daß sich gerade die LiCl-Versuche durch relativ viele und klare Diakinesebilder auszeichneten. Hiervon müssen allerdings ausgenommen werden der 150 r-Versuch, bei dem nur 8 Zellen analysiert werden konnten, und der 450 r-Versuch, in dem trotz sorgfältiger Durchsicht des gesamten Materials keine einzige Diakinesezelle gefunden wurde. Sämtliche Kombinationsversuche mit Bestrahlungen von 150 r und 450 r wurden im Gegensatz zu allen übrigen Versuchen mit Seiteninfloreszenzen durchgeführt, und da an diesen die einzelnen Knospen im räumlichen Abstand und dem Entwicklungsstadium weiter voneinander entfernt sind als an den Hauptinfloreszenzen, ist die Wahrscheinlichkeit, beim Fixieren Diakineseknospen zu erhalten, geringer. Im Vergleich mit der H_2O-Kontrolle sahen die Chromosomen der LiCl-Versuche kompakter aus, und der Unterschied zwischen Euchromatin und Heterochromatin erschien häufig weitgehend verwischt. Besonders auffallend waren aber eigenartig gestörte Zellen, die in einem

Teil der Präparate in großen Nestern, in anderen einzeln zwischen die gut analysierbaren Diakinesen eingestreut lagen (Abb. 6). In diesen Zellen schien das Chromatin zu kugelartigen Gebilden zusammengeflossen zu sein, die untereinander durch zäh gezogene, färbbare Fäden verbunden sein konnten. An ein Identifizieren einzelner Chromosomen war nicht mehr zu denken. Eine Vorstufe zu dieser offensichtlich schweren Schädigung schienen Zellen zu sein, in denen die einzelnen Chromosomen zwar noch zu erkennen waren, ein Teil von ihnen aber eine veränderte Form zeigte und durch dünne Fäden mit verschieden großen Kügelchen färbbarer Substanz in Zusammenhang standen. Die gleiche Kernschädigung wurde zwar auch in einigen anderen Versuchen gefunden, jedoch nur nach Bestrahlung und niemals mit der Regelmäßigkeit und in dem Ausmaß wie in den LiCl-Versuchen; sie betraf dann stets nur vereinzelte Zellen.

KCl-Versuche. In den KCl-Versuchen waren die Veränderungen der Chromosomen gegenüber den H_2O-Kontrollen weniger auffallend. Auch hier fanden sich Diakinesezellen mit stark verknäuelten bis verklumpten Chromosomen. In den Metaphasen lagen häufig ungewöhnlich kleine Chromosomen auf einer Stelle eng zusammengedrängt. Die einzelnen Diakinesechromosomen erinnerten zum Teil in ihrem Aussehen an die der LiCl-Versuche, wenn auch die Verwischung des Unterschiedes zwischen Heterochromatin und Euchromatin schwächer war und kompakt aussehende Chromosomen seltener und weniger deutlich ausgeprägt gefunden wurden. In den KCl-Versuchen, die mit 150 r und 450 r bestrahlt wurden und, wie bereits erwähnt, mit Seiteninfloreszenzen durchgeführt wurden, konnten Zellen in Diakinese gefunden werden, in dem 450-r-Versuch allerdings nur in geringer Häufigkeit (116 Zellen).

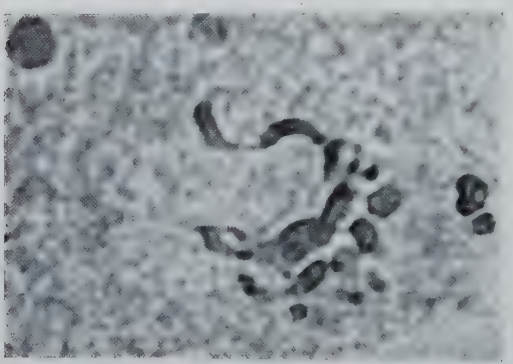


Abb. 6. Die schwere Kernstörung nach LiCl-Einwirkung. Vergr. 2500mal.

CsCl-Versuche. Diese Versuchsgruppe bot insofern ein einheitliches Bild, als in sämtlichen Teilversuchen trotz gründlicher Durchsicht des gesamten Materials bis auf vereinzelte Fälle keine analysierbaren Diakinesezellen gefunden werden konnten, wohl aber solche mit verklumpten Chromosomen gesehen wurden. Da die CsCl-Versuche insgesamt mit 80 Hauptinfloreszenzen und 60 Seiteninfloreszenzen durchgeführt wurden, kann es sich um kein Zufallsergebnis handeln. Die Ursache muß eine gesteigerte Verklumpungstendenz oder Fixierungslabilität sein, die durch die Einwirkung des CsCl hervorgerufen worden ist. Hiervon war auch noch ein Teil der Metaphase betroffen, andere zeigten die schon bei den KCl-Versuchen beschriebene, ungewöhnliche Kleinheit der Chromosomen und ihre Konzentrierung auf einen Ort. Daß keine schwere Störung der Kernteilungsvorgänge vorliegt, zeigen die normal ablaufenden Anaphasen und die anschließende zweite Teilung. Bei der Durchsicht des mit 450 r bestrahlten Versuches wurden in einer Anzahl Diakinesezellen mit verklumpten Chromosomen freiliegende Fragmente gesehen, ebenso in einigen Anaphasen.

$MgCl_2$- und $CaCl_2$-Versuche. Diese beiden Versuchsgruppen können bei der Beschreibung zusammengefaßt werden. Sie boten etwa das gleiche Bild wie die H_2O-Kontrollen. Die Chromosomen sind aufgelockert und zeigen in der frühen Diakinese einen deutlichen Unterschied zwischen dem stark gefärbten Heterochromatin und dem schwach gefärbten Euchromatin. Wie in den H_2O-Kontrollen findet sich auch hier oft eine Verklumpung der Chromosomen, in den $MgCl_2$-Versuchen in größerer Häufigkeit als in den $CaCl_2$-Versuchen. Weitere Störungen wurden nicht beobachtet. Wegen der Schwierigkeiten, die sich bei den 150 r- und 450 r-Versuchen der Alkalisalze ergeben hatten, wurden die entsprechenden Versuche mit den restlichen Salzen nicht ausgewertet.

KSCN-Versuche. Bei der Auswertung der KSCN-Versuche zeigte sich ein völlig verändertes Verhalten der Chromosomen gegenüber allen anderen Beobachtungen. Neben zahlreichen gut analysierbaren Zellen mit Chromosomen von normaler Länge zeichnete sich besonders die frühe Diakinese durch auffallend lange, offensichtlich in ihrer Spiralisation

gestörte Chromosomen aus, die dazu eigenartig gleichmäßig gefärbt waren und somit keinen Unterschied zwischen Euchromatin und Heterochromatin erkennen ließen. Nur relativ sehr selten fand sich eine Verklumpung von Chromosomen. Die frühe Diakinese war jedoch wegen der sehr langen Chromosomen schwer zu analysieren. Auch die vorangehende Phase zeigte nicht die übliche Verklumpungstendenz, wenn sie auch nicht das Aussehen hatte, das man von einem normalen Diplotän erwartet (Abb. 7). Es fiel hier wiederum die gleichmäßige Färbung über die gesamte Chromosomenlänge auf. Das gleiche gilt weiterhin für das Pachytän, das, wohl damit im Zusammenhang, auch nicht die übliche Zusammenballung der heterochromatischen Abschnitte zeigte (vgl. MARQUARDT 1937). Nicht nur die frühen Stadien der Meiosis, sondern auch die Anaphase zeigte ein ungewöhnliches Verhalten, indem in zahlreichen Fällen schon während der Bewegung der Chromosomen zu den Polen die Entspiralisierung einsetzte und somit schon in der Anaphase keine distinkten Chromosomenkörper mehr zu erkennen waren.

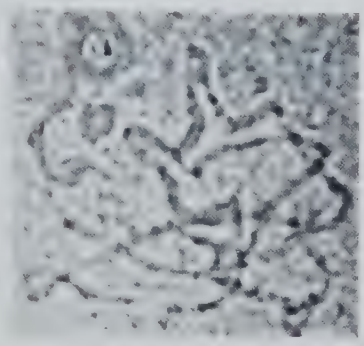


Abb. 7. Diplotän nach KSCN-Einwirkung. Vergr. 2500mal.

K_2SO_4-Versuche. Die K_2SO_4-Versuche zeigten im großen und ganzen keinen Unterschied zu den H_2O-Kontrollen. Der Unterschied zwischen Euchromatin und Heterochromatin war in der frühen Diakinese durch die verschieden starke Färbung deutlich zu erkennen. In einem Teil der Zellen waren die Chromosomen zusammengeballt. Auffallend war in beiden K_2SO_4-Versuchen eine relativ hohe Zahl interstitieller Chiasmen, die sonst nur ganz vereinzelt gefunden wurden.

c) Vergleich der Verklumpungstendenz der Chromosomen.

Aus der Beschreibung der einzelnen Versuchsgruppen geht bereits hervor, daß die Salze einen Einfluß auf den Verklumpungsgrad ausüben. Für einen quantitativen Vergleich wurden aus den Präparaten, aus denen die ersten 100 analysierten Diakinesen herausgezeichnet wurden, außerdem die unanalysierbaren Diakinesezellen ausgezählt. Um den Röntgeneinfluß auszuschalten, wurden hierzu jeweils die unbestrahlten Kontrollen herangezogen. Es wurden dabei nur Zellen gezählt, bei denen mindestens einige Chromosomen miteinander verklebt waren und die nur an einzelnen freiliegenden Bivalenten oder aus dem Klumpen herausragenden Chromosomen und an den benachbarten Pollenmutterzellen als Diakinesestadien erkannt werden konnten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Der CsCl-Versuch wurde nicht in die Tabelle aufgenommen, weil es nicht sinnvoll erschien, die große Anzahl der Diakinesezellen mit verklebten Chromosomen zu bestimmen, die auf die wenigen analysierten Zellen entfallen. Das CsCl entfaltet von den verwendeten Salzen offenbar die stärkste Wirkung bei der in Frage stehenden Erscheinung. Ein Vergleich der einzelnen Salzversuche mit der H_2O-Kontrolle zeigt, daß mit Ausnahme des $CaCl_2$ in jedem Falle eine

Tabelle 3. *Vergleich der Verklumpungstendenz.*

Versuch	Ausgezählte Zellen	Analysierbare Zellen	Zellen mit verklumpten Chromosomen		P-Wert (gegen H_2O)
H_2O	382	101	281	73,5%	
LiCl	1381	125	1256	90,9%	$<0{,}01$
KCl	1065	107	958	89,9%	$<0{,}01$
$MgCl_2$	621	105	516	83,1%	$<0{,}01$
$CaCl_2$	591	160	431	72,9%	$>0{,}1$
KSCN	193	111	82	42,5%	$<0{,}01$
K_2SO_4	250	105	145	58,0%	$<0{,}01$

gesicherte Differenz vorhanden ist. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß auch zwischen den Präparaten eines einzelnen Versuchs eine statistisch gesicherte Inhomogenität bestand. Es soll darum nur dem extrem niedrigen Wert des KSCN-Versuchs Bedeutung beigemessen werden, der in Übereinstimmung steht mit dem allgemeinen Eindruck bei der Auswertung und mit dem erwähnten besonderen Chromosomenverhalten der KSCN-Versuche zusammenhängen mag. Im Widerspruch zu dem allgemeinen Eindruck bei der zytologischen Auswertung steht der hohe Prozentsatz im LiCl-Versuch. Es dürfte jedoch hierfür die beschriebene schwere Kernstörung der LiCl-Versuche verantwortlich zu machen und infolgedessen dieser Versuch von einem Vergleich auszuschließen sein.

d) Vergleich des Mutationsgeschehens.

Für den Vergleich des Mutationsgeschehens in den einzelnen Versuchen sind die Zahlen für die H_2O- und Salz-Kontrollen in Tabelle 4, für die Versuche, die mit 300 r bestrahlt wurden, in Tabelle 4 und für die Versuche mit Röntgendosen von 150 r und 450 r in Tabelle 6 zusammengestellt. Während in den ungeröntgten Kontrollen Zellen mit mehr als einer Aberration nur ganz selten gefunden wurden und daher hier die Mutationsrate durch die Zahl der Zellen mit Aberration in Prozent der analysierten Zellen gekennzeichnet werden kann, sind in den Röntgenversuchen Zellen mit mehr als einer Chromosomenmutation relativ häufig, so daß für einen genauen quantitativen Vergleich wiederum zusätzlich noch die Zahl gebrochener Chromosomen in Prozent der analysierten Chromosomen angegeben wurde. Diese Zahlen liegen den in der letzten Spalte der Tabellen 5 und 6 enthaltenen, mit Hilfe des χ^2-Testes berechneten P-Werten zugrunde.

Tabelle 4. *Die unbestrahlten Kontrollen.*

Versuch	Analysierte Zellen	Zellen mit Aberration	Translokationen	Fragmente	P-Wert (gegen H_2O)
H_2O	200	9	8	1	
LiCl	200	9	6	3	
KCl	200	10	9	1	
CsCl	—	—	—	—	
$MgCl_2$	200	14	14	—	
$CaCl_2$	200	13	14	—	
KSCN	200	25	23	3	$<0{,}01$
K_2SO_4	200	14	15	—	0,1

Bei Betrachtung der Tabelle 4 zeigt sich, daß gegenüber der relativ hohen Mutationsrate der H_2O-Kontrolle, auf die bereits verwiesen wurde, von den Salzen allein das KSCN eine mutationsauslösende Wirkung ausübt. Die Differenz gegenüber der Kontrolle ist mit $P_{hom} < 0{,}01$ gut gesichert. Sämtliche andere Werte ergeben keine gesicherten Unterschiede im Vergleich mit dem H_2O-Versuch.

Für einen Vergleich der Salze im Hinblick auf eine Beeinflussung der mutationsauslösenden Strahlenwirkung ist vor allen Dingen Tabelle 5 heranzuziehen. Bevor sie jedoch diskutiert wird, sollen die ihr zugrunde liegenden Zellen- bzw. Chromosomenzahlen einer kritischen Betrachtung unterzogen werden. Zu diesem Zwecke wurde für den Versuch H_2O + 300 r, in dem die meisten Zellen analysiert werden konnten, die Kurve des mittleren Fehlers in Abhängigkeit von der Zellenzahl konstruiert (Abb. 8). Die Streuung beträgt in diesem Versuch $\sigma = 39{,}0\,\%$. Aus der Abb. 8 geht hervor, daß bei einer Zellenzahl von 200, wie sie den meisten

Tabelle 5. *Salzversuche mit Bestrahlung von 300 r.*

Versuch	Analysierte Zellen	Zellen mit Aberration	Translokationen	Fragmente	Analysierte Chromosomen	Gebrochene Chromosomen	%	P-Wert (gegen H_2O+300 r)
$H_2O + 300$ r	587	107	86	31	8218	203	$2{,}46 \pm 0{,}17$	
$LiCl + 300$ r	371	109	94	26	5194	214	$4{,}10 \pm 0{,}28$	$< 0{,}01$
$KCl + 300$ r	200	55	36	20	2800	92	$3{,}29 \pm 0{,}34$	$< 0{,}05$
$CsCl + 300$ r	7	2	2	—	98	4	—	—
$MgCl_2 + 300$ r	200	38	29	13	2800	71	$2{,}54 \pm 0{,}30$	0,9
$CaCl_2 + 300$ r	215	39	31	11	3010	72	$2{,}39 \pm 0{,}28$	0,9
$KSCN + 300$ r	201	61	50	19	2814	119	$4{,}23 \pm 0{,}38$	$< 0{,}01$
$K_2SO_4 + 300$ r	222	41	29	16	3108	74	$2{,}38 \pm 0{,}27$	0,8

Versuchen zugrunde liegt, der mittlere Fehler sehr groß und der Abfall der Kurve noch relativ steil ist. Erst von einer Zellenzahl von 400—500 an zeigt die Fehlerkurve einen flacheren Verlauf, so daß eine weitere Vergrößerung des Materials den mittleren Fehler nur noch unwesentlich herabsetzt. Wegen der erwähnten Schwierigkeiten im Auffinden von analysierbaren Zellen war es aus arbeitstechnischen Gründen nicht möglich, die an sich erwünschten größeren Zahlen zu gewinnen. Diese Tatsache erschwert die statistische Sicherung der Ergebnisse, da durch die Größe des mittleren Fehlers tatsächlich vorhandene kleine Differenzen statistisch nicht von zufälligen Schwankungen unterschieden werden können. Die P-Werte der Tabelle 5 zeigen nun an, daß der Versuch $LiCl + 300$ r mit $P_{hom} < 0{,}01$ und ebenso der Versuch $KSCN + 300$ r mit $P_{hom} < 0{,}01$ gegenüber der Kontrolle $H_2O + 300$ r gut gesicherte Differenzen aufweisen, während $P_{hom} < 0{,}05$ für den Versuch $KCl + 300$ r eine Differenz wahrscheinlich macht. In allen Fällen handelt es sich um eine Erhöhung der Zahl gefundener Aberrationen. Die anderen Versuche zeigen eine gute Übereinstimmung mit der H_2O-Kontrolle.

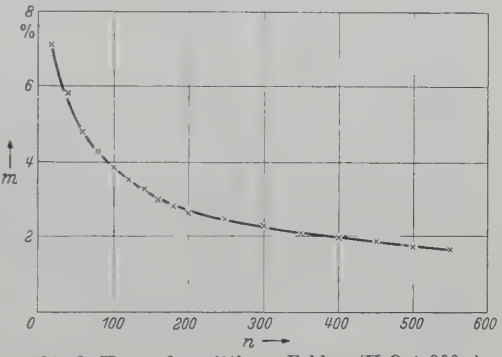


Abb. 8. Kurve des mittleren Fehlers ($H_2O + 300$ r).

Eine bessere Sicherung als durch den χ^2-Test ist mit Hilfe der Varianzanalyse möglich, bei der die durch stets vorhandene unkontrollierbare Variationsursachen bedingte Streuung mit derjenigen verglichen wird, die durch zusätzliche und zugleich kontrollierbare Variationsursachen (systematische Faktoren) hervorgerufen wird. Ferner ist durch die Varianzanalyse ein gleichzeitiges Erfassen mehrerer einwirkender Faktoren sowie möglicherweise zwischen diesen bestehender Korrelationen möglich (Fisher 1938, Harte 1950). Für die Anwendung dieser Methode war es allerdings notwendig, die Versuche, in denen größere Zahlen erhalten wurden, auf 200 Zellen zu reduzieren. Die wichtigsten Zahlen der Varianzanalyse sind in Tabelle 7 zusammengestellt und in Abb. 9 in Kurvenform veranschaulicht. Aus der Differenzentabelle geht hervor, daß die unterschiedliche Wirkung des KSCN mit $D > 61{,}9$ ($P < 0{,}01$) gegenüber H_2O, K_2SO_4, $CaCl_2$, $MgCl_2$ gut gesichert und mit $D > 40{,}9$ ($P < 0{,}05$) gegenüber KCl gesichert ist.

Tabelle 6. *Salzversuche mit Bestrahlungen von 150 r und 450 r.*

Versuch	Analysierte Zellen	Zellen mit Aberration	Translokationen	Fragmente	Analysierte Chromosomen	Gebrochene Chromosomen		P-Wert
$H_2O + 150$ r	400	43	36	8	5600	79	$1{,}41 \pm 0{,}16$	$< 0{,}01$
$KCl + 150$ r	200	35	34	4	2800	72	$2{,}57 \pm 0{,}30$	
$LiCl + 150$ r	8	3	2	1				
$CsCl + 150$ r	6	1	—	1				
$H_2O + 450$ r	400	119	111	16	5600	236	$4{,}21 \pm 0{,}27$	$< 0{,}05$
$KCl + 450$ r	116	47	38	13	1624	89	$5{,}48 \pm 0{,}57$	
$LiCl + 450$ r	—	—	—	—				
$CsCl + 450$ r	2	1	—	1				

Im Vergleich mit der Interaktion-Tabelle zeigt sich dann, daß diese Differenz nicht oder zum mindesten nicht nur auf eine Steigerung der Mutationsauslösung durch Röntgenbestrahlung zurückzuführen ist. Die mutagene Wirkung des KSCN allein ist also auch varianzanalytisch gesichert. Ob daneben noch eine Beeinflussung der Röntgenwirkung vorliegt, kann nicht entschieden werden. Die relativ hohen I-Werte in der Interaktion-Tabelle und die im Vergleich mit der H_2O-Kurve steiler ansteigende KSCN-Kurve der Abb. 9b lassen es jedoch möglich erscheinen. Anders verhält sich

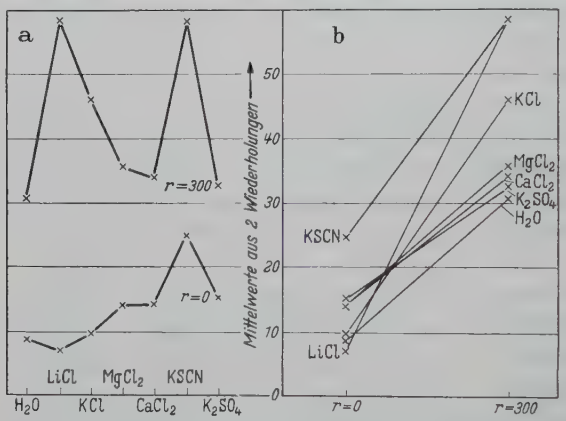


Abb. 9a u. b. Zur Varianzanalyse.

das LiCl, dessen gesichert unterschiedliches Verhalten auf eine Beeinflussung der Strahlenwirkung zurückzuführen ist, wie aus der Interaktion-Tabelle hervorgeht; $I > 45{,}8$ ($P < 0{,}05$) gegenüber H_2O, $MgCl_2$, $CaCl_2$, K_2SO_4. Für das KCl bestehen keine gesicherten Differenzen, doch kommen sowohl in der Differenzen- als in der Interaktion-Tabelle die D- und I-Werte dicht an die zugehörigen Minimumwerte heran. Weiterhin zeigen die Ergebnisse der KCl-Versuche mit Bestrahlungen von 150 r und 450 r (Tabelle 6) an, daß auch das KCl einen Einfluß auf die Röntgenstrahlenwirkung ausübt. Während für KCl + 450 r mit $P < 0{,}05$ das Bestehen einer Differenz wahrscheinlich gemacht wird, ist es für KCl + 150 r mit $P < 0{,}01$ gesichert. Eine weitere Stütze hierfür ist die Tatsache, daß die P-Werte in allen 3 KCl-Versuchen sehr klein sind und die Differenzen in der gleichen Richtung liegen. Bei Fehlen eines stets gleichsinnig gerichteten Einflusses müßte auch das χ^2 einer Normalverteilung folgen. Wie bereits dargelegt wurde, besagt bei dem zu geringen Umfang des Materials die Unmöglichkeit, Differenzen statistisch gesichert nachzuweisen, noch nichts über ihr Nichtvorhandensein, was ebenso für die oben aufgeworfene Frage nach der Wirkungsweise des KSCN zu berücksichtigen ist. Die Dosis-Effektkurve für die KCl-Versuche (Abb. 3, gestrichelte Kurve) zeigt bei durchweg höheren Werten einen ähnlichen Verlauf wie die der einfachen Röntgenversuche, ist aber wegen der geringen Zellenzahlen erheblich unausgeglichener.

Tabelle 7. *Wichtigste Werte der Varianzanalyse.*

a) Ausgangstabelle.

	Salz	Aberrierte Chromosomen unter: 1. 1400 Chromosomen	Aberrierte Chromosomen unter: 2. 1400 Chromosomen	Summe
r = 0	H_2O	6	11	17
	LiCl	6	8	14
	KCl	8	11	19
	$MgCl_2$	14	14	28
	$CaCl_2$	16	12	28
	KSCN	23	26	49
	K_2SO_4	8	22	30
r = 300	H_2O	34	27	61
	LiCl	52	65	117
	KCl	43	49	92
	$MgCl_2$	39	32	71
	$CaCl_2$	42	26	68
	KSCN	56	61	117
	K_2SO_4	37	28	65
	Summe	384	392	776

b) Endanalyse.

Variationsursache	s. q. a.	F. G.	σ^2, Varianz	F berechnet	F theor. 95 %	F theor. 99 %	Fberech n./theor. 95 %	Fberech n./theor. 99 %
Röntgendosen . .	5890,9	1	5890,9	123,50	161	4052	0,77	0,03
Röntgendosis × Wiederholung .	47,7	1	47,7					
Salze	1284,8	6	214,1	6,13	4,28	8,47	1,43	0,72
Salze × Wiederholung	209,7	6	34,9					
Salze × Röntgendosis	902,1	6	150,4	4,46	4,28	8,47	1,04	0,53
Salze × Röntgendosis × Wiederholung	202,3	6	33,7					

c) Differenzentabelle Salze. $P = 0{,}05$, $D^{+} = 40{,}9$; $P = 0{,}01$, $D^{++} = 61{,}9$.

	KSCN	LiCl	KCl	$MgCl_2$	$CaCl_2$	K_2SO_4	H_2O	Summe	Salze
KSCN		35	55^{+}	67^{++}	70^{++}	71^{++}	88^{++}	166	KSCN
LiCl			20	32	35	36	53^{+}	131	LiCl
KCl				12	15	16	33	111	KCl
$MgCl_2$					3	4	21	99	$MgCl_2$
$CaCl_2$						1	18	96	$CaCl_2$
K_2SO_4							17	95	K_2SO_4
H_2O								78	H_2O

d) Interactiontabelle Salze × R.-Dosis. $P = 0{,}05$, $J^{+} = 45{,}8$; $P = 0{,}01$, $J^{++} = 75{,}9$.

	LiCl	KCl	KSCN	H_2O	$MgCl_2$	$CaCl_2$	K_2SO_4	Diff.	Salze
LiCl		30	35	59^{+}	60^{+}	63^{+}	68^{+}	+103	LiCl
KCl			5	29	30	33	38	+73	KCl
KSCN				24	25	28	33	+68	KSCN
H_2O					1	4	9	+44	H_2O
$MgCl_2$						3	8	+43	$MgCl_2$
$CaCl_2$							5	+40	$CaCl_2$
K_2SO_4								+35	K_2SO_4

Werden die Versuche qualitativ untereinander verglichen, so zeigt sich, daß das Verhältnis der Translokationen zu den Fragmentationen in allen Fällen ungefähr gleichbleibt. Mit Hilfe des Homogenitätstestes sind keine gesicherten Differenzen nachzuweisen: $P_{hom} = 0{,}5$. Die Erhöhung der Mutationsrate in den LiCl-, KCl- und KSCN-Versuchen kommt also sowohl auf Kosten der Translokationen als der Fragmente zustande.

III. Kombination von Röntgenbestrahlung mit verschiedenen Temperaturen.

Wie bereits im methodischen Teil berichtet, wurden die Röntgenversuche bei verschiedenen Temperaturen so durchgeführt, daß die Pflanzen nicht nur während der Bestrahlung, sondern während der ganzen Versuchsdauer den entsprechenden Temperaturen ausgesetzt wurden. Es sollte auf alle Fälle ein Temperaturschock vermieden werden, der, auch wenn er sich nicht in den Kontrollen zu erkennen gibt, doch einen Einfluß auf die Nachwirkung der Bestrahlung haben könnte. Diese Versuchsanordnung hatte aber notwendigerweise eine verschiedene Ablaufgeschwindigkeit der Meiosis bei den verwendeten Temperaturen zur Folge. Um dieser Komplikation zu begegnen, wurden die Versuche zu verschiedenen Zeiten fixiert, und zwar die 20°-Versuche am 4. und 5. Tage, die 10°-Versuche am 5. und 6. Tage nach der Bestrahlung. Daneben wurde versucht, die Größe der Ablaufdifferenz näher zu bestimmen, indem aus einer Anzahl von Knospen direkt nach der Bestrahlung jeweils 1—2 Antheren entnommen und der Rest jeder Knospe am 5. Tage fixiert wurde. Es sollte damit festgestellt werden, in welchem Stadium sich die nach 5 Tagen fixierten Knospen zum Zeitpunkt des Eingriffes befunden hatten. Da der 20°-Versuch nach 5 Tagen noch zu schildernde schwere Störungen besonders der in Teilung befindlichen Zellen aufwies, konnte in ihm nur festgestellt werden, daß die bei der 2. Fixierung am 5. Tage Tetraden enthaltenden Knospen zur Bestrahlungszeit noch prämeiotische Ruhekerne zeigten. Die Zellen, die sich nach dieser Versuchsdauer in der Diakinese befanden, müssen also während der Bestrahlung ebenfalls noch Ruhekerne enthalten haben, die sicherlich noch in einem gewissen zeitlichen Abstand vom Einsetzen der Kernteilung standen. In dem 10°-Versuch war eine direkte Bestimmung möglich: Die nach 5 Tagen fixierten Diakinesezellen befanden sich während der Bestrahlung im Beginn der Prophase, wohl Leptotän, obgleich eine Unterscheidung zwischen Leptotän und Zygotän bei den Kältekammer-Oenotheren fast unmöglich ist. Hiernach dürften die in den 20°-Versuchen nach 4 Tagen und die in den 10°-Versuchen nach 6 Tagen als Diakinese fixierten Zellen während der Bestrahlung etwa im gleichen prämeiotischen Stadium gewesen sein.

Während die 10°-Versuche sowohl nach 5 als nach 6 Tagen das gewohnte Bild boten, unterschieden sich die beiden 20°-Versuche stark voneinander. In dem nach 4 Tagen fixierten Versuch fanden sich klare, leicht analysierbare Kerne in großer Anzahl. Verklebte Chromosomen waren sehr selten. Hiernach ist also allein die niedrige Temperatur für das starke Verklumpen der Chromosomen in den Kältekammerversuchen verantwortlich zu machen, nicht etwa das Abschneiden der Infloreszenzen. Auch alle anderen Stadien ließen keine Anzeichen einer Schädigung erkennen, es sei denn einige wenige Tetraden, die etwas geschrumpft aussahen. Dagegen weist der einen Tag später fixierte 20°-Versuch schwere Störungen auf. Sehr viele Antheren ließen sich überhaupt nicht quetschen. In ihren Loculi lagen völlig degenerierte Zellen in dunklen Strängen zusammengeballt. Bei anderen gelang es, einzelne Zellen herauszuquetschen, deren Plasma jedoch zusammengeschrumpft oder auch vakuolisiert war. Der Kern war häufig nur als ein einziger schwarzer Klumpen zu erkennen. In einer Anzahl von Antheren hatten die Kerne normales Aussehen, obgleich das sie umgebende Plasma durch eine scheckige Struktur auch hier eine Schädigung anzeigte. In den Anaphasen war die Wanderung der Chromosomen zu den Polen häufig gestört und gab Veranlassung zur Restitutionskernbildung. Daneben wurden auch einige Antheren mit relativ vielen und klaren Diakinesebildern gefunden. In der zugehörigen unbestrahlten Kontrolle, die das gleiche Verhalten zeigte, fielen ferner Zellen auf, deren Chromosomen an die der KSCN-Versuche erinnerten.

Tabelle 8. *Temperaturversuche.*

Versuch	Analysierte Zellen	Zellen mit Aberration	Translokationen	Fragmente	P-Wert	Analysierte Chromosomen	Gebrochene Chromosomen	P-Wert
Kontrolle 10°, 6. Tag	200	9	8	1		2800	17	
Kontrolle 20°, 5. Tag	100	4	4	—		1400	8	
300 r, 10°, 6. Tag	100	18	17	3	0,1	1400	37	0,8
300 r, 10°, 5. Tag	100	18	13	8		1400	34	
300 r, 20°, 5. Tag	100	23	5	19	0,2	1400	29	0,05
300 r, 20°, 4. Tag	100	33	4	38		1400	46	
300 r, 10°	200	36	30	11	<0,01	2800	71	0,8
300 r, 20°	200	56	9	57		2800	75	

Die Ergebnisse der Analyse des Mutationsgeschehens sind in Tabelle 8 zusammengestellt. Die beiden ungeröntgten Kontrollen bei 10° und 20° zeigen eine gute Übereinstimmung. Die nach 5 und 6 Tagen fixierten 10°-Versuche zeigen unter sich keine Differenzen, weder in der Zahl der gebrochenen Chromosomen noch im Verhältnis der Fragmentationen zu den Translokationen. Das letztere gilt auch für die beiden, nach 4 und 5 Tagen fixierten 20°-Versuche, während hier eine Differenz in der Zahl der ausgelösten Brüche mit $P = 0{,}05$ vorhanden sein könnte. In den beiden letzten Zeilen der Tabelle 8 sind die Werte der 10°- und 20°-Versuche jeweils zusammengefaßt. Im Hinblick auf die Anzahl gebrochener Chromosomen ergibt sich mit $P = 0{,}8$ eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Gruppen. Wird dagegen das Verhältnis Translokationen zu Fragmentationen verglichen, so zeigen die Versuche ein völlig entgegengesetztes Verhalten: während in den 10°-Versuchen der größte Teil der Aberrationen in die Klasse der Translokationen fällt, überwiegen in den 20°-Versuchen die Fragmente. Diese Differenz ist mit $P < 0{,}01$ gut gesichert. Gegenüber den 10°-Versuchen ist also bei gleicher Häufigkeit gebrochener Chromosomen der Anteil der Fragmente auf Kosten der Translokationen erhöht.

D. Diskussion.

Bei einer Einwirkung von Agenzien auf die Zelle zur Auslösung von Chromosomenmutationen muß stets das komplizierte Gefüge der Zelle berücksichtigt werden. Es muß mit zahlreichen direkten und indirekten Wirkungen auf die verschiedenen Zellbestandteile gerechnet werden. Dabei können die einzelnen Effekte miteinander in Korrelation stehen. In dieser Tatsache liegt die Schwierigkeit, aus der aufgefundenen Reaktion Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus des auslösenden Faktors zu ziehen. Bei einer Abtrennung einzelner Teilprobleme von der gesamten Zellbeeinflussung handelt es sich stets um eine Vereinfachung der Gegebenheiten. So ist auch bei der Frage nach dem Entstehungsmechanismus der Chromosomenmutationen neben einer direkten Auslösung an den zugrunde liegenden Strukturen mit einer Einflußnahme der Umgebung zu rechnen.

I. Allgemeine Reaktionen des Zellkernes.

In der vorliegenden Arbeit sind neben den Beobachtungen über Chromosomenmutationen weitere Veränderungen in der Zelle beschrieben worden.

a) Die unspezifische physiologische Störung.

Nach Röntgenbestrahlung zeigte eine Anzahl von Freilandpflanzen, die während des Versuchs relativ niedrigen Temperaturen ausgesetzt waren, einige Erscheinungen aus dem Komplex der unspezifischen physiologischen Störung (MARQUARDT 1948). Sie wurden dadurch hervorgerufen, daß durch die tiefe Temperatur eine Verlangsamung des Meiosisablaufs herbeigeführt worden war — (über Abhängigkeit der Ablaufgeschwindigkeit der Meiosis von der Temperatur vgl. auch STRAUB 1939, OHLENDORF 1944, LINNERT 1950) — und die Bestrahlung dadurch schon vorgeschrittene Kernteilungsstadien angetroffen hatte. Es wurden dabei neben zahlreichen Fragmentationen, die bereits einen strukturellen Eingriff darstellen, starke Verzerrungen der Chromosomen und Matrixverklebungen beobachtet. Die unspezifische physiologische Störung ist von MARQUARDT (1949) ausführlich beschrieben worden. Über den Mechanismus ihrer Auslösung bestehen bislang nur hypothetische Vorstellungen.

b) Verklumpung der Chromosomen.

Von der eben beschriebenen Störung muß die ganz allgemein als „Verklumpung der Chromosomen" bezeichnete Erscheinung getrennt werden. Sie wurde durch verschiedene Einwirkungen in verschiedenen quantitativen Abstufungen hervorgerufen und ist damit ebenfalls von unspezifischer Natur. Da sie als Folge eines Eingriffs nur im Diakinesestadium aufzutreten pflegt und damit als Ausdehnung des normalerweise infolge von Fixierungslabilität stark verklumpten Diplotäns erscheint, liegt der Schluß auf eine Artefaktbildung nahe. An dem in Frage stehenden Chromosomenverhalten sind mindestens 2 Vorgänge beteiligt: Einma eine Zusammenballung der Chromosomen und zum andern ein Verkleben ihrer Oberflächen. Die beiden Vorgänge scheinen nicht unbedingt miteinander in Korrelation zu stehen, jedoch ist eine sichere Entscheidung infolge der Unübersichtlichkeit der Chromosomen nicht möglich. Bei dem Verkleben handelt es sich um eine Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit der Chromosomen, wie sie ähnlich für die unspezifische physiologische Störung typisch ist. Das Zusammenlagern der Chromosomen könnte dagegen durch eine Beeinflussung des Kernsaftes bedingt sein, wobei etwa an eine Viskositätsänderung zu denken wäre.

Die Verklumpung der Chromosomen trat zunächst einmal nach Aufenthalt der Pflanzen in einer Temperatur von 10° C auf. Dieser Befund steht im Widerspruch zu dem Verhalten mitotischer Chromosomen nach Einwirkung niedriger Temperaturen (BRAUER 1949). Diese pflegen dann besonders klar von einander getrennt zu sein. Es ist möglich, daß es sich bei der Empfindlichkeit gegenüber tiefen Temperaturen um eine Besonderheit der Meiosis handelt. Damit stehen im Einklang die Befunde von OHLENDORF (1944) an der Meiosis der Tomate, in deren frühen Stadien bei Aufenthalt in einer Temperatur von 5° C eine schlechte Fixierbarkeit und ein Verkleben von Chromosomen beobachtet wurde.

Weiterhin wurde bei Röntgenbestrahlung mit steigender Dosis eine Zunahme der nicht analysierbaren Zellen konstatiert. Eventuell ist bei dieser Einwirkung vor allen Dingen ein Verkleben von Chromosomen für das Verklumpen verantwortlich zu machen, das nach Röntgenbestrahlung häufig aufzutreten pflegt. Daneben ist seit längerer Zeit bekannt, daß durch Röntgenbestrahlung eine Herabsetzung des Wasserbindungsvermögens von Eiweiß erfolgt. Dadurch könnte ein verändertes Verhalten des Kernes gegenüber der Fixierung hervorgerufen werden.

Auch von einigen Salzen wurde ein Einfluß auf die Verklumpung der Chromosomen ausgeübt. Eindeutig ist er für das CsCl, das die Tendenz der Chromosomen zur Zusammenlagerung außerordentlich steigerte. Nach KSCN-Einwirkung wurde dagegen eine deutliche Herabsetzung der Verklumpungstendenz beobachtet. Dieses Salz nahm noch in weiterer Hinsicht eine Sonderstellung ein. Die verschiedenen durch das KSCN hervorgerufenen Effekte stehen möglicherweise miteinander in Verbindung. Auf sie sei darum im folgenden Abschnitt zusammenhängend eingegangen.

c) Das Chromosomenverhalten nach KSCN-Einwirkung.

Neben einer Herabsetzung der Verklumpungstendenz zeichneten sich die KSCN-Versuche dadurch aus, daß der färberische Unterschied zwischen Hetero- und Euchromatin in der Diakinese und auch in früheren Stadien verwischt war. Daneben traten in der Diakinese Spiralisationsstörungen auf und bereits in der Anaphase setzte häufig die Entspiralisierung der Chromosomen ein.

Daß durch die Einwirkung bestimmter Salze eine Entspiralisierung der Chromosomen zustande kommt, ist seit längerer Zeit bekannt (Kuwada und Nakamura 1934, Kuwada, Sinke und Oura 1938); es seien in diesem Zusammenhang als Beispiele nur das KCN und NH_4SCN genannt. Eine Deutung findet dieser Tatbestand im Zusammenhang mit den von der japanischen Schule entwickelten Vorstellungen über den Spiralisationsvorgang (Kuwada 1939) durch eine Quellungserhöhung der Matrix, die die für eine maximale Kontraktion des Chromosoms notwendige Entquellung der Matrix verhindert und gleichzeitig die verfrüht einsetzende Entspiralisierung erklärt. Es wurde jedoch bereits von der japanischen Schule darauf hingewiesen, daß die Quellungsvorgänge im Kern im Zusammenhang mit Veränderungen des p_H-Wertes stehen; ferner wurde die Vermutung geäußert, die Dehydratation, die eine Kontraktion der Chromosomen bewirkt, stehe in Verbindung mit den Faktoren, die die Kernteilung herbeiführen. In neuerer Zeit sind dann Zusammenhänge zwischen Nucleinsäuregehalt und Spiralisationsgrad konstatiert worden (Darlington 1947). Nucleinsäuremangel führte zu Spiralisationsstörungen, die vor allem heterochromatische Chromosomenabschnitte betrafen.

Daß auch die in den vorliegenden Untersuchungen durch das KSCN bewirkte Spiralisationshinderung mit Veränderungen im Nucleinsäuregehalt der Chromosomen parallel geht, zeigen die ihrer ganzen Länge nach gleichmäßig gefärbten Chromosomen an. Auch die starke Abschwächung der üblichen Chromosomenverklumpungen bereits im Diplotän in den KSCN-Versuchen deutet darauf hin; denn ein Verkleben von Chromosomen konnte unter verschiedenen ungewöhnlichen Bedingungen auf das Gegenteil, eine Überladung mit Nucleinsäure

zurückgeführt werden (Darlington 1947). Da das KSCN, wie aus zellphysiologischen Versuchen bekannt ist, außerordentlich stark quellend auf das Plasma wirkt, kann wohl in dem ungewöhnlichen Chromosomenverhalten der KSCN-Versuche ein Hinweis auf den engen Zusammenhang zwischen Dehydratationsvorgängen und der Nucleinsäureaufnahme gesehen werden.

d) Die schwere Kernstörung nach LiCl-Einwirkung.

Als letztes ist noch die schwere Kernstörung der LiCl-Versuche zu erwähnen, die im extremen Fall zu einem völligen Zusammenbruch der chromatischen Strukturen führte. Da nicht zu übersehen ist, welche Wirkungen des LiCl hierfür verantwortlich zu machen sind, sei nur an die in anderer Hinsicht erwiesene Giftigkeit des Lithiums erinnert, die in Wachstumsunterbindung, Keimungshemmung und verschiedenen pathologischen Symptomen zum Ausdruck kommt (vgl. Scharrer 1941). Diesen Erscheinungen liegt möglicherweise primär eine Kernstörung zugrunde.

II. Die Auslösung von Chromosomenmutationen.

Im folgenden sei nun auf die Strukturveränderungen, die als Chromosomenmutationen klar definierbar sind, eingegangen.

a) Dosisabhängigkeit.

Bei Untersuchungen über Mutationsauslösung durch ionisierende Strahlen sind 3 Möglichkeiten gegeben, den auslösenden Faktor zu variieren: 1. können verschiedene Typen ionisierender Strahlung verwendet werden, 2. kann die Wirkung von Strahlen verschiedener Intensität und 3. die Abhängigkeit des ausgelösten Effekts von der Dosis untersucht werden (vgl. Timoféeff-Ressovsky und Zimmer 1947).

In der vorliegenden Arbeit sind die Effekte verschiedener Röntgendosen an der auf die Bestrahlung folgenden Meiosis von *Oenothera* getestet worden. Die dabei gefundenen Werte für die Häufigkeit der Chromosomenaberrationen wurden mit theoretischen Trefferkurven verglichen. Es ergab sich, daß die für Translokationen gefundenen Werte etwa einer Zweitrefferkurve folgen. Diese Zwei-Bruch-Umbauten sind demnach auf 2 unabhängig voneinander induzierte Ereignisse zurückzuführen. Die für Fragmente gefundene Dosiseffektkurve steigt linear mit einer Eintrefferkurve an. Wegen zu geringer Zahl der Versuchswerte kann nicht sicher entschieden werden, ob im oberen Kurventeil eine Abflachung stattfindet. Ihr Bestehen könnte durch eine in diesem Dosisbereich zunehmende Beteiligung der Brüche an den anwachsenden Rekombinationen erklärt werden. Die Befunde an *Oenothera* stehen im Einklang mit bereits vorliegenden, an anderen Objekten gewonnenen Ergebnissen, mit denen sie im folgenden verglichen werden sollen.

Es liegen mit verschiedenen Untersuchungsmethoden gewonnene Beobachtungen vor. In den von botanischer Seite ausgehenden Arbeiten sind die ausgelösten Chromosomenmutationen quantitativ weitgehend erfaßt, weil hier der Schädigungseffekt bereits an der ersten auf die Strahlung folgenden Zellteilung getestet wurde und darum noch keine Elimination letaler Chromosomenumbauten stattfinden konnte. Es sind zunächst die Arbeiten von Sax zu nennen, der den Erfolg verschiedener Röntgendosen an der Pollenmitose von *Tradescantia* untersuchte (1938, 1940, 1941). Dabei sind die Beziehungen zwischen den

von Sax u. a. angegebenen Dosisproportionalitätskurven und Trefferkurven von Bauer (1942) eingehend diskutiert worden. Für die quantitative Auswertung der zytologischen Analyse werden von den chromosomalen Schädigungen nur bikommissurale und Ringchromosomen herangezogen. Während in der ersten Arbeit für die Dosisproportionalität dieser Umbauten ein Dosisexponent von 1,5 gefunden wurde, wird später übereinstimmend ein Exponent von 2,0 angegeben. Die abweichenden Ergebnisse der vorangehenden Untersuchung werden darauf zurückgeführt, daß damals für höhere Dosen bei gleichbleibender Intensität die Bestrahlungszeit verlängert wurde. Dadurch entsteht eine Interferenz mit einer bei *Tradescantia* nachgewiesenen Zeitfaktorwirkung (Sax 1939). Werden die verschiedenen Dosen sämtlich in der gleichen Zeit gegeben, also allein durch Variation des Abstandes von der Röhre, so wird der reine Exponent 2,0 erhalten. — Es ist möglich, daß die bei *Oenothera* gefundene, gleichsinnige Abweichung der Werte für translocierte Chromosomen von der theoretischen Zweitrefferkurve (vgl. Abb. 2) eine kleinere Trefferzahl andeutet und auf einen Zeitfaktor zurückzuführen ist, da die verschiedenen Dosen bei gleichbleibender Intensität durch Variation der Bestrahlungszeit gegeben wurden. Jedoch dürften für eine solche Aussage 3 Versuchswerte kaum genügen. — Aus der quadratischen Proportionalität zwischen Dosis und Effekt schließt Sax, daß die den betrachteten Umbauten zugrunde liegenden 2 Brüche durch 2 voneinander unabhängige Treffer hervorgerufen werden. Bei verschieden stark protrahierter Bestrahlung ergibt sich mit zunehmender Bestrahlungszeit eine Abnahme der Aberrationsfrequenz und eine Veränderung des Kurventyps bis zur fast linearen Proportionalität. Dieses kann nur so gedeutet werden, daß entstandene Brüche nach kurzer Zeit wieder ausheilen, wenn sich nicht vorher ein zweiter Bruch in einem angrenzenden Chromosom ereignet, was aber mit zunehmender Protraktion immer unwahrscheinlicher wird. Dieser Zeitfaktor macht sich um so stärker geltend, je höher die Dosis ist. Die Ergebnisse zeigen also, daß sich viele Brüche sehr bald nach ihrer Induktion (innerhalb weniger Minuten und wahrscheinlich noch kürzerer Zeit) wieder vereinigen. Daneben hat Sax für Chromatidveränderungen auch Ein-Bruch-Ereignisse auf ihre Dosisproportionalität hin untersucht. Er erfaßte dabei nur Schwesterchromatidbrüche, die in den meisten Fällen Schwesterchromatidrestitutionen formieren, und findet für sie nahezu lineare Proportionalität (Dosisexponent 1,1). Zwei-Bruch-Chromatidveränderungen zeigen wiederum quadratische Proportionalität. Zu ähnlichen Ergebnissen über die Dosisabhängigkeit bei *Tradescantia* kam Rick (1940).

Im Gegensatz zu Sax, der nur bestimmte Typen der Chromosomenmutationen in seiner Analyse erfaßte, untersuchte Marquardt (1938, 1940, 1941) an der Pollenmitose von *Bellevalia romana*, anschließend an eine ausführliche Figureninterpretation, sämtliche auftretenden Aberrationstypen in ihrer Dosisabhängigkeit. Für Zwei-Bruch-Umbauten wird auch hier eine quadratische Proportionalität gefunden, woraus geschlossen wird, daß die betreffende Veränderung auf mindestens 2 Treffer zurückgeführt werden muß. Die Dosisproportionalitätskurve für die Fragmentationen steigt zunächst linear an, zeigt dann aber in ihrem weiteren Verlauf starke Abflachung. In ihrem linearen Teil stimmt sie mit einer theoretischen Eintrefferkurve überein; für die Abflachung werden die biologische Variabilität und die mit steigender Dosis zunehmende Beteiligung der Brüche an den Rekombinationen verantwortlich gemacht. Einen ähnlichen Kurvenverlauf gibt Thoday (1942) für einfache chromatidale Brüche bei *Tradescantia* an.

Bei *Drosophila* werden die Chromosomenmutationen an Nachkommenschaften, die auf bestrahlte Spermien zurückgehen, auf 2 verschiedenen Wegen erfaßt: Einmal indirekt durch Kreuzungsanalyse und zweitens direkt durch zytologische Untersuchung der Speicheldrüsen der F_1-Larven. Während diese Untersuchungsverfahren nur eine bestimmte Auswahl der entstandenen Chromosomenaberrationen, nämlich die lebensfähigen, zu erfassen vermögen — unter anderem entgehen die für den Entstehungsmechanismus der Chromosomenaberrationen wichtigen Fragmentationen im allgemeinen der Analyse —, bietet vor allem die Speicheldrüsenuntersuchung den Vorteil einer genauen Lokalisation der aufgetretenen Brüche. Für die in Versuchen verschiedener Autoren kreuzungsanalytisch erfaßten Chromosomenmutationen variieren die Trefferzahlen zwischen 1,2 und 2,0 (vgl. Catsch 1948). Der flachere Kurvenverlauf wird darauf zurückgeführt, daß der Anteil der zygotenletalen Chromosomenmutationen mit steigender Dosis wächst. Mit Hilfe der Speicheldrüsenmethode erfaßte Chromosomenmutationen (Bauer, Demerec und Kaufmann 1938, Bauer 193c) zeigen eine quadratische Dosisproportionalität.

Die Tatsache, daß Ein-Bruch-Ereignissen 1 Treffer, Zwei-Bruch-Ereignissen aber 2 Treffer zugrunde liegen, wird von seiten der Treffertheorie zusammen mit Versuchsergebnissen über die Wirksamkeit verschiedener Intensitäten und verschiedener Typen ionisierender Strahlung als wichtigste Stütze für die Annahme herangezogen, daß einem Chromosomen- bzw. Chromatidenbruch der Durchgang eines ionisierenden Teilchens durch einen „Treffbereich", eine bestimmte Chromosomenstruktur oder ihre unmittelbare Nachbarschaft, zugrunde liegt (LEA 1946). Weiterhin sind die den verschiedenen Chromosomenaberrationen zuzuordnenden Trefferzahlen für eine Entscheidung zwischen den beiden schon frühzeitig aufgestellten Hypothesen über die Entstehung der Chromosomenmutationen zugunsten der STADLERschen Bruchhypothese gewertet worden: Der Bildung eines Chromosomenumbaues geht ein Brechen von Chromosomen voraus, erst daran anschließend können die Bruchflächen neue Verbindungen eingehen (STADLER 1932). Dagegen forderte die Kontakthypothese (SEREBROVSKY 1929), daß einer Umordnung von Chromosomenabschnitten ein unmittelbarer Kontakt der betreffenden Chromosomenstellen vorangehen solle. — Die Natur der Veränderung, die durch das energetische Primärereignis im Chromosom hervorgerufen wird, ist bislang noch völlig unbekannt und wird aus diesem Grunde gewöhnlich als „potentieller Bruch" bezeichnet. Wie einleitend betont, kann sich ein Bemühen, dem Verständnis des Entstehungsmechanismus der Chromosomenmutation näherzukommen, jedoch nicht mit der Erfassung des primären energetischen Ereignisses allein zufrieden geben. Die Mannigfaltigkeit der beobachteten Chromosomenaberrationen erfordert, den an das Primärereignis anschließenden Reaktionen Beachtung zu schenken. Auf diese wird noch im weiteren Verlauf der Diskussion einzugehen sein.

b) Zusammenwirken von Röntgenstrahlen und Neutralsalzen.

Bei der Deutung der Ergebnisse der Salzversuche macht sich die Schwierigkeit geltend, daß über den Angriff der Salze in der Zelle keine Aussagen zu machen sind. Daß die Salze in die Zelle eingedrungen sind, geht zum mindesten in einem Teil der Versuche aus dem veränderten Aussehen der Chromosomen hervor. Ob sie aber bis zum Zellkern und in ihn hinein oder aber nur in das Zytoplasma gelangt sind, kann nicht mehr entschieden werden. Eine Wirkung auf den Kern könnten die Salze auch indirekt über Veränderungen im Zytoplasma entfalten. Noch weniger ist es möglich, Aussagen über die für die einzelnen Salze möglicherweise stark unterschiedlichen Konzentrationen in der Zelle zu machen. Ferner sind die Wirkungen der Ionen auf die Plasmastruktur recht vielfacher Art (BOGEN 1948 a, b). Sie äußern sich nicht nur in Veränderung des Hydratationsgrades, sondern beeinflussen auch die Anordnung der Hydratationszentren, die Ladungsverteilung u. a. m. Hierbei können die Ionen je nach Wirkungsmechanismus (z. B. Adsorption unter Entladung und ohne Entladung) den Plasmazustand in ganz verschiedenem Sinne und Ausmaße beeinflussen. Daher sind exakte Angaben über die Wirkungsmechanismen der Ionen nur an Hand von Ionenreihen möglich. Da nun aber keine Ionenreihen aufgefunden werden konnten, sind in der Diskussion keine quantitativen Angaben zu machen, sondern sie muß sich auf allgemeine Gesichtspunkte beschränken und versuchen, Erklärungsmöglichkeiten herauszustellen.

In den kombinierten Versuchen konnte eine Beeinflussung der mutationsauslösenden Röntgenwirkung für das LiCl nachgewiesen werden. Für das KCl wurde sie wahrscheinlich gemacht, ist aber im Gegensatz zu der Kombination von Äthylurethan und KCl so gering, daß ein Vergleich kaum zulässig sein dürfte. Während in Kombination mit den Salzen $CaCl_2$, $MgCl_2$ und K_2SO_4 die Häufigkeit der induzierten Aberrationen mit dem Wert für die reine Röntgenkontrolle gut übereinstimmt, kann die erhöhte Rate in dem kombinierten KSCN-Versuch durch Addition zweier mutagener Wirkungen erklärt werden. Eine Korrelation zwischen KSCN- und Strahlenwirkung kann jedenfalls nicht gesichert nachgewiesen werden.

Die mutagene Wirkung des KSCN wurde bereits von Stubbe (1940) konstatiert, der bei *Antirrhinum* nach Behandlung von Samen mit einer KSCN-Lösung eine gut gesicherte Erhöhung der Mutationsrate in der F_2 fand. Ob die Auslösung von Chromosomenmutationen durch das KSCN auf seine außergewöhnlich stark quellende und damit strukturverändernde Wirkung zurückzuführen ist oder über eine Beeinflussung des Nucleinsäurestoffwechsels (vgl. Darlington und Koller 1947) oder über noch völlig unbekannte Reaktionsketten zustande kommt, muß dahingestellt bleiben.

Für die den Röntgeneffekt erhöhende Wirkung des LiCl und KCl ist es von Wichtigkeit, daß sowohl die Fragmentationen als die Translokationen in ihrer relativen Häufigkeit vermehrt sind und das Verhältnis zwischen diesen beiden Aberrationsklassen gewahrt bleibt. Damit gewinnen 2 Erklärungsmöglichkeiten an Wahrscheinlichkeit: entweder ist in diesen Versuchen die Zahl der primär induzierten potentiellen Brüche erhöht, oder aber die Rückrestitution in den Ausgangszustand, die gewöhnlich die Zahl der manifest werdenden Brüche stark reduziert, ist in einem gewissen Grade behindert.

Nun handelt es sich bei LiCl und KCl um 2 Salze, die im allgemeinen quellend auf das Plasma wirken. Über den Einfluß der Quellung auf die Strahlenempfindlichkeit von Zellen und Geweben liegt aber bereits eine Anzahl übereinstimmender Ergebnisse vor. So wurde nach Röntgenbestrahlung von Gerstensamen mit verschiedenem Wassergehalt sowohl eine stärkere Chromosomenstörung als auch Keimschädigung bei höherem Quellungsgrad der Samen gefunden (Gustafsson 1936, Wertz 1940). Marquardt und Ernst (1940) stellten eine erhöhte Mutationshäufigkeit nach Bestrahlung von unreifem Antirrhinumpollen fest, der sich durch höheren Wassergehalt von reifem Pollen unterscheidet; der größte Teil der F_1-Abweicher zeigte chromosomale Schädigungen. Knapp und Kaplan (1942) fanden ebenfalls bei *Antirrhinum* nach Erhöhung des Quellungszustandes der Samen und des Pollens (Kaplan 1939, 1940a, 1948) bei anschließender Röntgenbestrahlung neben anderen veränderten Strahlenwirkungen auch ein vermehrtes Auftreten von Mutationen in der F_1 und F_2. Die F_1-Abweicher wurden als Maß für die Häufigkeit von Chromosomenmutationen gewertet. Von den beiden letztgenannten Autoren wird auch der Mechanismus einer solchen Beeinflussung der Strahlenwirkung eingehender diskutiert (Knapp 1939, Kaplan 1940a, b). Danach kann an eine durch Hydratationserscheinungen bedingte Vergrößerung des „Wirkungsvolumens", also derjenigen Chromosomenstrukturen, in denen durch Energieabsorption der Chromosomenbruch induziert wird, gedacht werden. Oder es könnte eine Veränderung etwa der Ladungsanordnung

eine in Betracht gezogene Energieleitung erleichtern (veränderte „Wirkungswahrscheinlichkeit"). Diese Deutungsversuche besitzen eine gewisse Wahrscheinlichkeit auch für die gefundene Verstärkung des Strahleneffektes durch LiCl und KCl, die beide durch Quellungserhöhung und Ladungsveränderung strukturverändernd wirken können. Es würde sich also um eine der Bestrahlung vorangehende Strukturveränderung handeln, durch die die gleiche eingestrahlte Energie wirkungsvoller würde, was in einer erhöhten Anzahl potentieller Brüche zum Ausdruck käme. Daneben muß aber auch an eine Erklärung durch veränderte Rückrestitution gedacht werden. Swanson (1944), der bei zusätzlicher vor und nach der Bestrahlung gegebenen Ultraviolettbehandlung eine Reduktion in der Zahl der Chromosomenbrüche konstatierte, erklärt seine Befunde durch eine auch beobachtete Veränderung der Matrix, die ein Weitergreifen des im Chromonema vorhandenen Risses verhindert und damit die entstandenen Bruchflächen davon abhält, neue Verbindungen einzugehen. Ohne dafür eine bestimmte Struktur verantwortlich zu machen, könnte im vorliegenden Fall gerade umgekehrt ein Größerwerden des induzierten Bruches dadurch erleichtert werden, daß der Hydratationszustand bestimmter Gruppen erhöht wäre und dadurch Bindungskräfte abgeschwächt würden; es kämen dafür vor allem heteropolare Kohäsionsbindungen in Frage (vgl. Frey-Wyssling 1938). Weiterhin wäre es möglich, daß die LiCl- und KCl-Einwirkung eine Viskositätsherabsetzung zur Folge hätte, wodurch eine erhöhte Bruchflächenbeweglichkeit herbeigeführt würde. Es ist also nicht zu entscheiden, ob die Ursache der veränderten Aberrationshäufigkeit in das primär induzierende Ereignis oder aber die anschließenden Folgereaktionen gelegt werden muß. — Das unterschiedliche Verhalten zwischen KSCN einerseits und LiCl und KCl andererseits könnte dadurch erklärt werden, daß für die verschiedenen beobachteten Veränderungen nicht die Gesamthydratation, sondern nur gewisse Teilkomponenten maßgebend wären (vgl. Bogen 1948b). Obgleich alle 3 Salze auf die Gesamthydratation gleichsinnig einwirken können, werden die einzelnen Hydratationskomponenten möglicherweise durch sie ganz verschieden beeinflußt.

Selbstverständlich bestehen neben den diskutierten noch weitere Erklärungsmöglichkeiten: es sei nur auf die in den LiCl-Versuchen beobachteten schweren Kernstörungen verwiesen. Neben einer Beeinflussung des Hydratationszustandes können die Ionen noch andere Wirkungen auf das Plasma ausüben. Ferner besteht auch keine Kontrolle über eine möglicherweise veränderte Ablaufgeschwindigkeit der Meiosis nach Salzeinwirkung, bei deren Vorhandensein Unterschiede im bestrahlten Kernstadium die Folge wären, die ihrerseits die Aberrationshäufigkeit beeinflussen könnten.

c) Die Wirkung der Röntgenstrahlen bei verschiedenen Temperaturen.

Über den Temperatureinfluß auf die Häufigkeit röntgeninduzierter Chromosomenaberrationen liegen wiederum an verschiedenen Objekten gewonnene Befunde vor. Während Darlington und LaCour (1945) bei *Tradescantia* keinen Temperatureffekt feststellen konnten, geben Sax und Enzmann (1939), Fabergé (1940), Catcheside, Lea und Thoday (1946) und Sax (1947) bei dem gleichen Objekt übereinstimmend für Versuche bei hoher Temperatur weniger Aberrationen als bei tieferer Temperatur an. Dabei kommt es nur auf den Temperatureinfluß während und unmittelbar nach der Bestrahlung an. Bei getrennter Auszählung von Ein-Bruch- und Zwei-Bruch-Veränderungen zeigt es sich, daß nur letztere von

dem Temperatureffekt betroffen werden (Sax 1947, Catcheside, Lea und Thoday 1946). Bei *Drosophila* liegen die Verhältnisse ähnlich: Muller (1941) findet keinen Temperatureffekt, während Papalashwili (1935), Mickey (1939), Kanellis (1946) und Baker (1948) eine Reduktion in der Zahl der beobachteten Chromosomenmutationen bei hoher Temperatur während der Bestrahlung mitteilen. Die Deutung des Temperatureffekts erfolgt gewöhnlich durch die Annahme einer erhöhten Rückrestitution bei höherer Temperatur, durch die die Zahl der für Rekombinationen zur Verfügung stehenden Brüche reduziert wird (Sax and Enzmann 1939, Kanellis 1946). Es ist bei einer derartigen Deutung jedoch nicht zu verstehen, warum die Ein-Bruch-Ereignisse keinen Temperatureffekt zeigen sollten; es müßte die Zusatzannahme gemacht werden, daß sie auf potentielle Brüche zurückzuführen wären, die nicht die Fähigkeit zur Rückrestitution besäßen.

In den vorliegenden Untersuchungen an *Oenothera* wurde nun ein Temperatureffekt sowohl für die Translokationen als Fragmentationen aufgefunden. Allerdings sind diese Versuche nicht direkt mit denjenigen der zitierten Autoren vergleichbar, weil die verschiedenen Temperaturen über die ganze Versuchsdauer beibehalten wurden. Weitere Versuche mit kurzfristigem Aufenthalt in den in Frage kommenden Temperaturen wären erforderlich. Von Interesse ist es jedoch nun, daß erhöhte Temperatur bei *Oenothera* ebenfalls eine Reduktion in der Zahl der aufgefundenen Zwei-Bruch-Aberrationen, nämlich der Translokationen bewirkt, während die Zahl der Fragmente dagegen eine deutliche Erhöhung zeigt, bei Betrachtung der Häufigkeit der einzelnen Brüche jedoch gute Übereinstimmung zwischen den Temperaturversuchen herrscht. Wenn diese Übereinstimmung auch zufälliger Natur sein kann, so müßte doch bei Beibehaltung der Annahme, die herabgesetzte Translokationszahl sei auf eine höhere Rückrestitution zurückzuführen, weiterhin eine durch erhöhte Temperatur vermehrte Anzahl potentieller Brüche mit Unfähigkeit zur Rückrestitution hinzugezogen werden, um die erhöhte Fragmentzahl zu erklären. Kaufmann und Wilson (1949) kommen nach Kombinationsversuchen an *Drosophila* mit Röntgen- und Infrarotbestrahlung zu dem Schluß, daß es 2 Klassen von Brüchen geben muß, die sich durch ihre Potenzen im weiteren Verhalten voneinander unterscheiden. Die „complete breaks" sind durch Vorbehandlung durch Infrarot nicht zu beeinflussen und ergeben die Schwesterchromatidrestitutionen. Anders verhalten sich die „potential breaks": ein Teil von ihnen restituiert während der Röntgenbestrahlung oder kurz danach in den Ausgangszustand, andere bleiben bestehen, bis sich Gelegenheit zur Rekombination bietet. Die Rekombinationszahl ist nach Infrarotvorbehandlung erhöht. Als Erklärung für das verschiedene Bruchverhalten werden Unterschiede in der Entstehungszeit der verschiedenen Aberrationstypen herangezogen. Ob den in der Meiosis von *Oenothera* beobachteten Fragmenten eine Schwesterchromatidrestitution zugrunde liegt, kann nicht festgestellt werden. Es könnte für die Unfähigkeit zur Rückrestitution bestimmter Brüche an eine durch erhöhte Temperatur vermehrte Schwesterchromatidvereinigung gedacht werden, wie sie von Darlington und LaCour (1945) bei *Tradescantia* gefunden wurde. Es stellt sich hierbei die Frage, ob und wieweit derartige Differenzen in den Fähigkeiten potentieller Brüche bereits durch Unterschiede im primär induzierenden Ereignis bedingt sein könnten (vgl. Marquardt 1941, 1949). Da jedoch gewöhnlich das Zustandekommen von Fragmenten nicht durch Unterschiede in den Fähigkeiten der potentiellen Brüche, sondern eher durch zufällige Bedingungskonstellationen erklärt wird, sei noch eine weitere Entstehungsmöglichkeit für den Temperatureffekt in Betracht gezogen. Bei

gleichbleibender Rückrestitution könnte die Bildung von Chromosomenumbauten erschwert sein. Hierfür wären entweder durch erhöhte Temperatur beschleunigte Kontraktionsvorgänge verantwortlich zu machen oder wiederum eine Veränderung der Bruchflächen, die in diesem Falle Unfähigkeit zur Rekombination bedingen würde. Der Temperatureinfluß müßte dabei nicht unbedingt direkter Art sein, sondern könnte auch indirekt über eine veränderte Umgebung angreifen. Mit dieser Annahme wäre auch der Übereinstimmung in der Bruchanzahl bei beiden Versuchstemperaturen Rechnung getragen. Es zeigt sich hier also besonders deutlich, wie weitgehend die an das primäre Ereignis anschließenden Vorgänge für das beobachtete Endresultat bestimmend sind. Ihre Beurteilung wird durch die Unmöglichkeit der direkten Beobachtung außerordentlich erschwert.

E. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Es wurden Infloreszenzen von *Oenothera (suaveolens sulfurea* × *Hookeri) flavens* · ^{h}*Hookeri* mit 150, 300 und 450 r bestrahlt und der Effekt der verschiedenen Röntgendosen an der im Anschluß an die Bestrahlung ablaufenden Meiosis untersucht. Die Röntgenbestrahlung wurde weiterhin einmal mit einer Einwirkung von Neutralsalzen auf die Pollenmutterzellen, zum andern mit verschiedenen Versuchstemperaturen kombiniert.

1. Es werden sowohl Chromosomenmutationen als auch weitere Veränderungen am Zellkern beschrieben.

2. Bei Bestimmung der Dosisabhängigkeit passen sich die Werte für translocierte Chromosomen einer theoretischen Zweitrefferkurve an, während diejenigen für die Fragmente am besten durch eine theoretische Eintrefferkurve zu interpretieren sind.

3. Von den verwendeten Salzen erweist sich das KSCN als mutagen.

4. In den Kombinationsversuchen ist eine Verstärkung der mutationsauslösenden Röntgenstrahlenwirkung durch das LiCl statistisch gesichert, für das KCl kann sie wahrscheinlich gemacht werden. Beide Salze allein wirken nicht mutagen. Zur Erklärung wird die quellende Wirkung dieser beiden Salze auf das Plasma herangezogen.

5. In den Temperaturversuchen bleibt der Prozentsatz der manifest werdenden Brüche gleich, während die relative Häufigkeit der Translokationen bei 20° C gegenüber der bei 10° C vermindert, die relative Häufigkeit der Fragmente dagegen erhöht ist. Diese Unterschiede müssen auf ein verschiedenes Verhalten der Bruchflächen bei den beiden Temperaturen zurückgeführt werden.

Literatur.

Baker, W. K.: The production of chromosome interchanges in *Drosophila virilis*. Abstract. Genetics **33**, 603 (1948). — Bauer, H.: Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. I. Chromosoma **1**, 343 (1939). — Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. II. Chromosoma **2**, 407 (1942). — Bauer, H., M. Demerec u. B. Kaufmann: X-ray induced chromosomal aberrations in *Drosophila melanogaster*. Genetics **23**, 610 (1938). — Bogen, H. J.: Untersuchungen über Hitzetod und Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplaste. Planta (Berl.) **36**, 298 (1948a). — Vergleichende Untersuchungen über Ionenreihen an pflanzlichen Protoplasten. Biol. Zbl. **67**, 490 (1948b). — Brauer, I.: Experimentelle Untersuchungen an Wurzelspitzen-Mitosen von *Vicia Faba*. Planta (Berl.) **36**, 411 (1949). — Catcheside, D. G., D. E. Lea and J. M. Thoday:

The production of chromosome structural changes in *Tradescantia microspores* in relation to dosage, intensity and temperature. J. Genet. **47**, 137 (1946). — Catsch, A.: Versuche an *Drosophila* über die Dosisabhängigkeit strahleninduzierter Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **82**, 155 (1948). — Darlington, C. D.: Nucleic acid and the chromosomes. Symp. Soc. exper. Biol. **1**, 252 (1947). — Darlington, C. D., and L. F. LaCour: Chromosome breakage and the nucleic acid cycle. J. Genet. **46**, 180 (1945). — Darlington, C. D., and P. C. Koller: The chemical breakage of chromosomes. Heredity **1**, 187 (1947). — Fabergé, A. C.: An experiment on chromosome fragmentation in *Tradescantia* by X-rays. J. Genet. **39**, 229 (1940). — Fisher, R. A.: Statistical methods for research-workers. London 1938. — Frey-Wyssling, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin. 1938. — Gustafsson, Å.: The different stability of chromosomes and the nature of mitosis. Hereditas (Lund) **22**, 281 (1936). — Harte, C.: Die Anwendung der Varianzanalyse bei der Auswertung zytologischer Untersuchungen. Chromosoma **3**, 567 (1950). — Kanellis, A.: Abhängigkeit der Rate strahleninduzierter Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster* von der Temperatur während der Bestrahlung. Naturwiss. **33**, 27 (1946). — Kaplan, R.: Über die Häufigkeit phänotypisch abweichender Pflanzen in der F_1-Generation aus verschieden gequollenen und bestrahlten Pollen von *Antirrhinum majus*. Z. Vererbungslehre **77**, 568 (1939). — Experimentelle und theoretische Untersuchungen über den Mechanismus der Keimungsschädigung durch Röntgenstrahlen beim Pollen von *Antirrhinum majus*. Biol. Zbl. **60**, 298 (1940). — Zur Frage der physicochemischen Struktur des Chromosoms. Naturwiss. **28**, 79 (1940). — Versuche an *Antirrhinum majus* über die Häufigkeit von Faktorenmutationen nach Röntgenbestrahlung des Pollens in verschiedenen Quellungszuständen. Z. Vererbungslehre **82**, 164 (1948). — Kaufmann, B. P., and K. Wilson: Modification of the frequency of chromosomal rearrangements induced by X-rays in *Drosophila*. IV. Post treatment with near infrared radiation. Genetics **34**, 425 (1949). — Knapp, E.: Mutabilität und physiologischer Zustand. Naturwiss. **27**, 839 (1939). — Knapp, E., u. R. Kaplan: Beeinflussung der Mutationsauslösung und anderer Wirkungen der Röntgenstrahlen bei *Antirrhinum majus* durch Veränderung des Quellungszustandes der zu bestrahlenden Samen. Z. Vererbungslehre **80**, 501 (1942). — Kuwada, Y.: Chromosome structure, a critical review. Cytologia **10**, 213 (1939). — Kuwada, Y., and T. Nakamura: Behaviour of chromonemata in mitosis II. Artificial unravelling of coiled chromonemata. Cytologia **5** (1934). — Kuwada, Y., N. Sinke and G. Oura: Artificial uncoiling of the chromonema spirals as a method of investigation of the chromosome structure. Z. Mikrosk. **55** (1938). — Lea, D. E.: Actions of radiations on living cells. Cambridge 1946. — Linnert, G.: Die Bestimmung des Zeitpunktes für das Auftreten von Chromosomenmutationen in der Meiosis von *Oenothera* nach experimenteller Einwirkung. Z. Vererbungslehre **83**, 414 (1950). — Marquardt, H.: Die Meiosis von *Oenothera*. I. Z. Zellforschg **27**, 149 (1937). — Röntgenpathologie der Mitose. I u. II. Z. Bot. **32**, 401 (1938). — Die Röntgenpathologie der Mitose. III. Z. Bot. **36**, 273 (1940/41). — Die Bestimmung der Dosisabhängigkeit röntgeninduzierter Chromosomenveränderungen bei *Bellevalia romana*. Z. Bot. **37**, 241 (1941/42). — Neuere Ergebnisse der Zytologie und Zytogenetik in ihrer Bedeutung für eine Grundlagenforschung der Chemotherapie der Tumoren. Ärztl. Forschg **2**, H. 21 (1948). — Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenbestrahlung. Experientia **5**, 1 (1949). — Marquardt, H., u. H. Ernst: Zytogenetische Röntgenversuche am reifenden Pollen von *Antirrhinum majus*. Z. Bot. **35**, 191 (1939/40). — Mickey, G. H.: The influence of low temperature on the frequency of translocations produced by X-rays in *Drosophila melanogaster*. Genetica ('s-Gravenhage) **21**, 386 (1939). — Muller, H. J.: An analysis of the process of structural change in chromosome of *Drosophila*. J. Genet. **40**, 1 (1940). — Oehlkers, F.: Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. Z. Vererbungslehre **81**, 313 (1943). — Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. Biol. Zbl. **65**, 12 (1946). — Mutationsauslösung durch Chemikalien. Sitzgsber. Heidelbg. Akad. wiss.-math.-naturw. Kl. 9. Abh. **1949**. — Oehlkers, F., u. G. Linnert: Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 136 (1949). — Ohlendorf, A.: Untersuchungen zur Zytologie und Physiologie der Meiosis an *Solanum Lycopersicum* und *Solanum tuberosum*. Diss. Freiburg i. Br. 1944. — Papalashwili, G.: The effect of a combined action of X-rays and low temperature on the frequency of translocations in *Drosophila melanogaster*. Biol. Z. **4**, 587 (1935). — Post, J. J.: Handleiding voor den opzet en de

verwerking van Fisherproeven. 's-Gravenhage **1946**. — Rick, Ch. M.: On the nature of X-ray induced deletions in *Tradescantia* chromosomes. Genetics **25**, 466 (1940). — Sax, K.: Chromosome aberrations induced by X-rays. Genetics **23**, 494 (1938). — The time factor in X-ray production of chromosome aberrations. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **25**, 5 (1939). — An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. Genetics **25**, 41 (1940). — Types and frequencies of chromosomal aberrations induced by X-rays. Cold Spring Harbor Symp. **9** (1941). — Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. Genetics **32**, 75 (1947). — Sax, K., and E.V. Enzmann: The effect of temperature on X-ray induced chromosome aberrations. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **25**, 8 (1939). — Serebrovsky, A. S.: A general scheme for the origin of mutations. Amer. Naturalist **63**, 374 (1929). — Stadler, L. J.: On the genetic nature of induced mutations in plants. Proc. 6. Internat. Congr. Gen. **1**, 274 (1932). — Stange, L.: Untersuchungen über den Einfluß von Begleitfaktoren auf die mutationsauslösende Wirkung der Röntgenstrahlen. Diss. Freiburg i. Br. 1950. — Straub, J.: Polyploidauslösung durch Temperaturwirkungen. Z. Bot. **34**, 385 (1939). — Stubbe, H.: Neue Forschungen zur experimentellen Erzeugung von Mutationen. Biol. Zbl. **60**, 113 (1940). — Swanson, C. P.: X-ray and ultraviolett studies on pollen tube chromosomes I. The effect of ultraviolet (2537 Å) on X-ray induced chromosomal aberrations. Genetics **29**, 61 (1944). — Thoday, J. M.: The effects of ionising radiations on the chromosomes of *Tradescantia bract*. A comparison between neutrons and X-rays. J. Genet. **43**, 199 (1942). — Timoféeff-Ressovsky, N., u. K. G. Zimmer: Biophysik Bd. I. Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig 1947. — Wertz, E.: Über die Abhängigkeit der Röntgenstrahlenwirkung vom Quellungszustand der Gewebe, nach Untersuchungen an Gerstenkörnern. Strahlenther. **67/68** (1940).

Dr. Luise Stange, Forschungsstelle für Zuckerrübenanbau.
Versuchsgut Holtensen bei Göttingen.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 83, S. 513—530 (1951).

Aus der Forstbotanischen Abteilung der Universität Freiburg i. Br.

DIE AUSLÖSUNG VON CHROMOSOMENMUTATIONEN DURCH RÖNTGENSTRAHLEN UND DURCH DIE INVERTSEIFE ZEPHIROL IN DER MEIOSIS VON OENOTHERA HOOKERI*.

Von

Hans Marquardt.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. November 1950.)

A. Einleitung.

Zephirol, ein Alkyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchlorid mit den Alkylen der geradzahligen Fettsäuren von 8—18 C-Atomen, gehört der Gruppe der Invertseifen zu. Während die echten Seifen außer dem hydrophoben Kohlenwasserstoffanteil eine *saure*, reagierende Gruppe besitzen, ist diese bei den Invertseifen basischen Charakters. Auf dieser Eigenart beruht das Interesse, das die Invertseifen von biologischer Seite gefunden haben, denn durch ihre basischen Gruppen vermögen sie mit den sauren Eiweißen oder Nukleinsäuren so zu reagieren, daß diese an den Reaktionsstellen mit einem Mantel hydrophober Gruppen umgeben werden, und so bereits in vitro tiefgreifende Änderungen ihrer chemischen Eigenschaften und im Extremfall Koagulation erfahren.

Dementsprechend gehören die Invertseifen der Gruppe antibiotischer Stoffe zu mit einer vielfältigen Wirkung im einzelnen; im Hinblick gerade auf das Zephirol heben wir die bakterizide Wirkung besonders heraus, deretwegen diese Substanz in der Medizin als starkes Desinfektionsmittel Verwendung findet. Von den typisch bakteriziden Stoffen ist aber unseres Wissens Zephirol der einzige, bei welchem gleichzeitig begründeter Verdacht auf mutationsauslösende Wirkung besteht. So veröffentlichten Moewus (1946) an *Chlamydomonas* und Demerec (1949) an Bakterien in vorläufiger Form positive Ergebnisse in dieser Richtung.

Für das Verständnis der Auslösung von Chromosomenbrüchen und von submikroskopischen Veränderungen einzelner Chromosomenloci (Genmutationen) durch Chemikalien erscheint uns aber die bei Zephirol zu vermutende enge Korrelation zwischen bakterizider bzw. antibiotischer und mutationsauslösender Wirkung so bedeutungsvoll, daß wir an den meiotischen Chromosomen von *Oenothera Hookeri* nachprüften, ob auch bei höheren Organismen diese mutationsauslösende Wirkung festgestellt werden kann.

Um eine sichere Vergleichsbasis für einen derartigen Effekt des Zephirols zu schaffen, haben wir in Parallelversuchen unter vergleichbaren Bedingungen am selben Objekt Röntgenbestrahlungen der Meiosis von *Oenothera Hookeri* mit 150 bzw. 300 r durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit werden die Wirkungen beider Agenzien beschrieben und zueinander in Beziehung gesetzt.

B. Material und Methode.

Als Versuchspflanze diente *Oenothera Hookeri* De Vries (7 Bivalente in der Meiosis) aus den Kulturen von Herrn Professor Oehlkers, für deren Überlassung

* Herrn Prof. Dr. F. Oehlkers zum 60. Geburtstag.

herzlich gedankt sei. Die *Oenotheren* wurden in Töpfen aufgezogen und der eine Teil kurz nach dem Aufblühen der ersten Blüten am Hauptsproß mit einer Röntgendosis von 150 r (67 r/min, HWS der Strahlung 1,8 mm Al) bzw. von 300 r bestrahlt.

Das Zephirol der Firma Bayer (Leverkusen) wurde mit Aqua dest. zu 0,5%iger Lösung angesetzt und es den Hauptinfloreszenzen unserer Topfpflanzen mit der Technik von OEHLKERS (1946) zugeführt (Längsspaltung der Infloreszenzachse auf etwa 14—16 cm und Eintauchenlassen des mindestens die halbe Dicke der Sproßachse umfassenden freien Stückes in ein Reagenzglas mit der Zephirollösung unter Verschluß der übrigen, nicht eingetauchten Wundflächen mit Vaseline).

Die mit 150 r bestrahlten Hauptinfloreszenzen wurden nach 2, 4 und 6 Tagen, die mit 300 r bestrahlten nach 9 Tagen und die zephirolbehandelten nach 3 bzw. 6 Tagen im üblichen Alkohol-Eisessiggemisch fixiert, um mit der Essigsäurekarminquetschmethode aufgearbeitet zu werden. Beim Zephirolversuch wurden aber diejenigen Infloreszenzen ausgeschieden, die gar nichts oder nur wenig von der Lösung aufgenommen hatten; bei den übrigen zeigten sich deutliche Unterschiede in der Bereitwilligkeit, Substanz aus dem Reagenzglas aufzunehmen.

Da bei experimentellen Eingriffen mit oft erheblichen Empfindlichkeitsdifferenzen bei den Versuchspflanzen zu rechnen ist, und bei Chemikalienversuchen die Verschiedenheit der Substanzaufnahme und -verteilung noch hinzukommt, haben wir in jeder einzelnen Versuchsserie Knospen von mindestens 3—4, bei größeren Zahlen auch von 4—6 Hauptinfloreszenzen verwendet. Die Auszählung der Chromosomenaberrationen und die Bestimmung der Zahl realisierter Endbindungen je Zelle erfolgte in der Diakinese der Meiosis und zwar wurden vorwiegend mittlere Stadien dieser Phase berücksichtigt.

C. Experimenteller Teil.

1. Die Aberrationstypen.

a) Die Fragmentationen und ihre Vorstufen.

Am auffälligsten und eindeutig zu interpretieren sind die den ganzen Chromosomenquerschnitt betreffenden, chromosomalen Fragmentationen. Sie bieten das von der Mitose her gewohnte Bild, wenn im fragmentierten Schenkel keine Endbindung zustande gekommen ist (Abb. 1a); sie erscheinen als Unterbrechung in einem der Bivalentchromosomen ohne räumliche Zuordnung der Bruchflächen zueinander, wenn trotz der Fragmentation beide Endbindungen realisiert sind (Abb. 1b). Da sich bei *Oenothera* die Chromatiden in der Diakinese nur selten ausprägen, ist eine Erfassung der Chromatidfragmentationen wohl nur unvollständig möglich. Am leichtesten gelingt sie im Heterochromatin, wenn durch ein Auseinanderklaffen der Bruchflächen ihre Identifikation erleichtert wird (Abb. 1c).

Neben chromosomalen Fragmentationen, die sich durch die fehlende räumliche Zuordnung der Bruchflächen als solche eindeutig ausweisen, kommen Bilder vor, bei denen eine derartige Zuordnung der Bruchflächen vorhanden ist, so daß durch den Eingriff am Chromosom lediglich eine achromatische Stelle entsteht. Sie erscheint in den verschiedenen Fällen entweder relativ schmal oder etwas mehr verbreitert (Abb. 2a), gelegentlich verbindet ein schmäler als der Chromosomenquerschnitt ausgebildeter Faden die beiden „Bruchflächen" miteinander (Abb. 2b). Er gleicht am ehesten einem ausgezogenen Matrixfaden, doch läßt

sich die Möglichkeit, daß es sich um verzerrte Chromatiden oder eventuell sogar Halbchromatiden handelt, nicht ausschließen. Solche Bilder finden sich im Eu- und Heterochromatin gleichermaßen, sie betreffen aber auch die Centromerregion. Da gerade hier in weniger kontrahierten Zuständen — in der mitotischen Prophase und im meiotischen Pachytän — auch normalerweise eine weniger

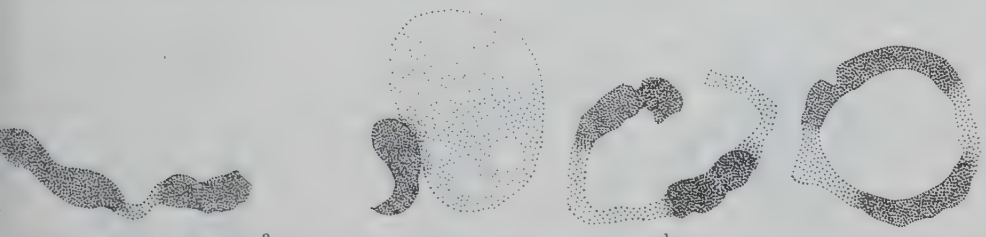


Abb. 1a—c. Fragmentationstypen meiotischer Chromosomen von *Oenothera Hookeri*. a Vollständige chromosomale Fragmentation bei Ausfall der Endbindung im fragmentierten Schenkel. 150 r, 6 Tage nach Bestrahlung. b Vollständige chromosomale Fragmentation bei Vorhandensein von Endbindungen in beiden Chromosomenschenkeln. 150 r, 6 Tage nach Bestrahlung. c Chromatidfragmentation im Heterochromatin. 150 r, 4 Tage nach Bestrahlung. Vergr.: etwa 3500mal.

färbbare Zone in unmittelbarer Nachbarschaft des wieder stärker färbbaren Centromers vorhanden ist, läßt sich gerade in solchen Fällen eine Entscheidung, ob es sich um eine echte unvollständige chromosomale Fragmentation oder um

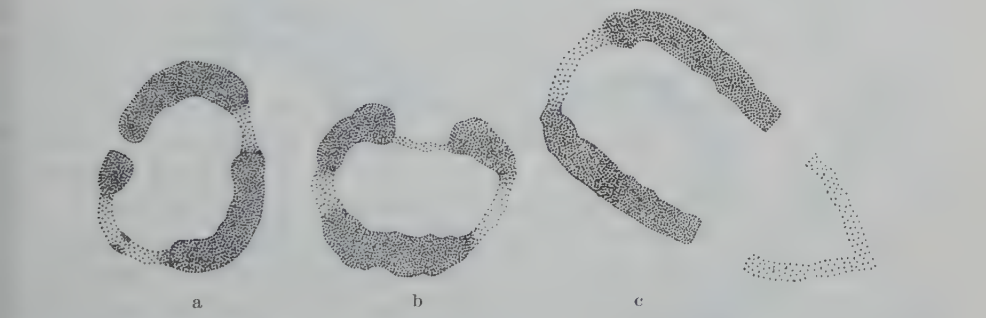


Abb. 2a—c. Lokale Achromasien meiotischer Chromosomen von *Oenothera Hookeri*. a Lokale Achromasie im Heterochromatin, 150 r, 6 Tage nach Bestrahlung. b Lokale Achromasie mit Verzerrung in der Centromer-Region. 150 r, 2 Tage nach Bestrahlung. c Symmetrische lokale Achromasien. Zephirol 0,5 % 6 Tage nach Versuchsbeginn. Vergr.: etwa 3500mal.

eine Störung der Nukleinsäureversorgung einer begrenzten Chromosomenregion oder — wie im Falle des Centromers — um eine Verzerrung einer vorgegebenen achromatischen Stelle handelt, nicht fällen. Aus diesen Beobachtungen heraus und aus dem bei *Paeonia* erhobenen Befund, wonach in der Anaphase eine Trennung der unterbrochenen Chromosomenschenkel im Fragment und Restchromosom häufig nicht stattfindet, haben wir in einem Sammelreferat (Marquardt 1950) vorgeschlagen, derartige Bilder als *lokale Achromasien* zu bezeichnen. Wir lassen somit durch diese Bezeichnung offen, ob es sich um eine unvollständige chromosomale Fragmentation handelt, wobei echte Bruchflächen mit vollständiger Unterbrechung des Längszusammenhangs im Chromosom vorliegen, oder ob es sich

um Fragmentvorstufen handelt, bei denen lediglich die normale Desoxyribose-Nukleinsäurebeladung bzw. eine Kontraktionsstörung eintrat und ein nicht färbbarer Zusammenhalt über die Achromasie hinweg sich erhalten hat.

In einzelnen Fällen, vor allem im Zephirolversuch, tritt eine solche lokale Achromasie nicht nur in einem der zum Bivalent zusammengeschlossenen Chromosomen, sondern in beiden Homologen an identischen Stellen auf (Abb. 2c). Der-

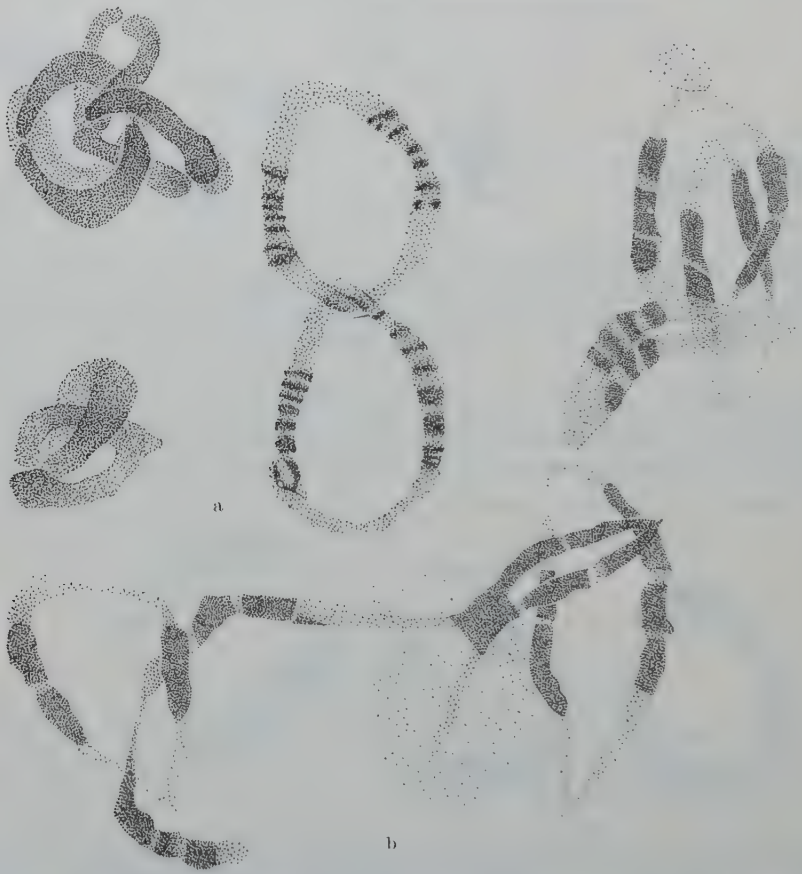


Abb. 3a u. b. Kernchromasien meiotischer Chromosomen von *Oenothera Hookeri*. a Kernachromasie zweier Bivalente. 300 r, 9 Tage nach Bestrahlung. b Alte Bivalente betreffende Kernchromasie. 0,5 % Zephirol, 3 Tage nach Versuchsbeginn. Vergr.: etwa 3000mal.

artige Bilder leiten über zu einer weiteren Gruppe von Fragmentvorstufen, die wir *Kernachromasien* nennen wollen; hier sind entweder einzelne Bivalente (Abb. 3a) oder aber alle eines Kerns mit einer großen Anzahl von Achromasien versehen, so daß an die Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* erinnernde Bilder entstehen (Abb. 3b); Euchromatin und vor allem das Heterochromatin sind in intensiv gefärbte „Banden" verschiedener Ausdehnung aufgeteilt, zwischen denen sich viel schwächer oder gar nicht gefärbtes Material befindet. Diese achromatischen Stellen sind meist schmal, gelegentlich erscheinen sie aber weit ausgezogen, jedoch immer unter Bewahrung einer deutlichen räumlichen Zu-

ordnung der angrenzenden intensiv färbbaren Bezirke. Da im mikroskopischen Bild nur ein kleiner Teil dieser achromatischen Lücken optisch leer erscheint, die meisten mehr oder weniger deutlich gefärbtes Material als Füllung enthalten, gewinnt unsere Deutung der Achromasien als Fragmentvorstufen und unsere Hypothese, es handle sich hier um Manifestationen von Störungen des Nukleinsäurestoffwechsels eine entscheidende Stütze. Es scheint aber dennoch die Möglichkeit zu bestehen, daß derartige Vorstufen bis zu echten Fragmentationen sich weiterentwickeln; ausgehend von Kernachromasien kommt es zu den Massenfragmentationen in einzelnen Kernen, die wir als „totalen Zusammenbruch des Chromosomengefüges" bezeichnen und nach Urethaneinwirkung bei *Paeonia* nachgewiesen haben (Oehlkers und Marquardt 1950). Dieser Endzustand trat jedoch in unseren *Oenothera*-Versuchen nirgends auf.

b) Die Rekombinationen.

Von Oehlkers und Linnert (1949) sind an einem Bastard mit einem Viererring die möglichen Konfigurationen dieser Gruppe eingehend behandelt worden. Es ergab sich dabei, daß unter den Rekombinationsbildern vor allem die Translokationen in der Diakinese von *Oenothera* gefunden werden können. Eine chromosomale Translokation zwischen 2 Chromosomen zeigt sich dabei im einfachsten Falle als Viererring, eine chromatidale Translokation durch Chromatidüberkreuzungen von 2 nichthomologen Chromosomen an. Durch Chiasmabildung in langen interstitiellen Segmenten eines Viererringes einerseits (Marquardt 1941, 1948) und durch Terminalisation von Chromatidtranslokationen andererseits wird aber die Differenz zwischen einer Konfiguration verwischt, die durch chromosomale oder chromatidale Translokation zustande gekommen ist. Der Rückschluß von dem beobachteten Konfigurationstyp auf einen chromatidalen oder chromosomalen Translokationsvorgang muß daher vorsichtig vorgenommen werden.

Außer den von Oehlkers und Linnert behandelten Konfigurationen haben wir in einem einzigen Falle noch eine *laterale* Translokation gefunden, bei der ein chromosomaler mit einem chromatidalen Bruch rekombinierte (Abb. 4).

Unter den Rekombinationen zwischen 2 und mehr Brüchen *innerhalb* eines Chromosoms (Inversionen, Duplikationen, Deletionen und Ringe als wichtigste Formen) haben wir in wenigen Fällen *Deletionen* identifizieren können; so interpretieren wir die meist kleineren Kugelfragmente (Abb. 5), deren Herkunft sich weder in einer Verkürzung eines Chromosoms noch in der Aufhebung einer Endbindung verrät. Gerade der letztere Gesichtspunkt ist zur Unterscheidung gegenüber subterminalen Fragmentationen wesentlich, die — falls sie sich aus dem Bivalent durch Bindungsausfall verselbständigen können — sich nicht abzukugeln pflegen.

Ferner sind von uns unter den chromatidalen Rekombinationen innerhalb eines Chromosoms diejenigen Konfigurationen erfaßt, bei denen der Abstand der rekombinierten Brüche voneinander verhältnismäßig groß ist, wie in dem Fall der Abb. 6, wo sie auf den beiden Schenkeln des betroffenen Chromosoms liegen und das ganze heterochromatische Segment mit dem Centromer zwischen sich

haben. Hier ist außerdem der Verlauf der rekombinierten Chromatiden ziemlich klar zu erkennen, was bei der starken Kontraktion der *Oenothera*-Chromosomen

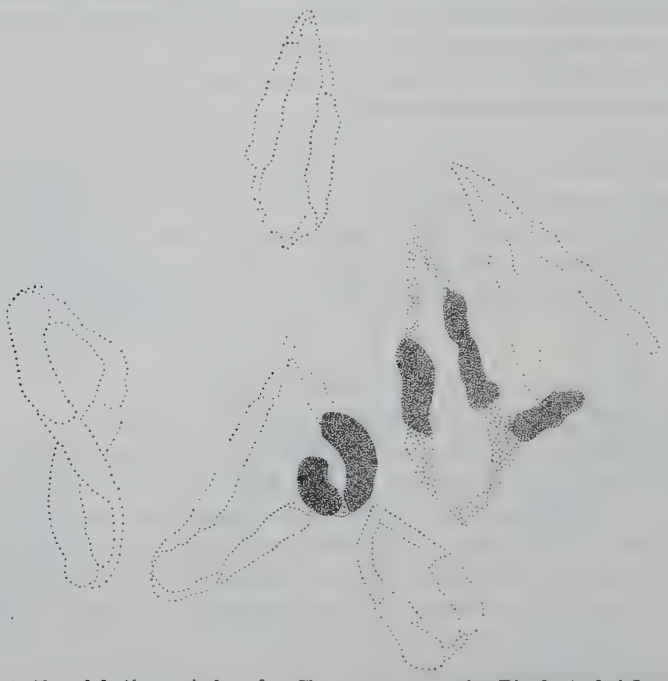


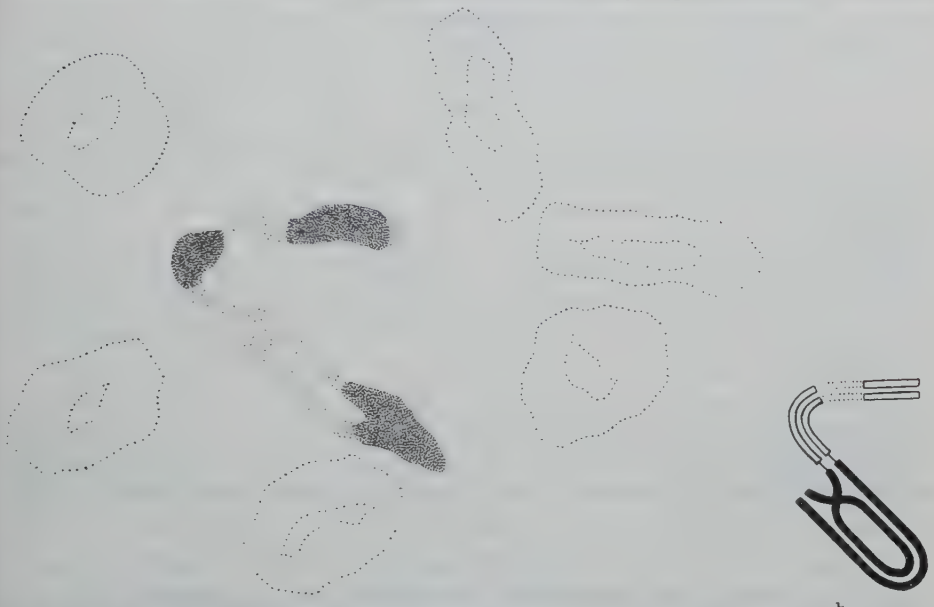
Abb. 4. Laterale Translokation zwischen den Chromosomen zweier Bivalente bei *Oenothera Hookeri*. 150 r, 4 Tage nach Bestrahlung. (Betroffene Chromosomen dunkel gezeichnet.) Vergr.: etwa 3000mal.

Abb. 5.: Terminalisierte Chromatidtranslokation („Quadrivalent Konfiguration", Pfeil) und Deletion (Kugelfragment) in der Diakinese von *Oenothera Hookeri*. 0,5% Zephirol, 6 Tage nach Versuchsbeginn.

und der daraus resultierenden räumlichen Näherung der Schwesterchromatiden meistens nicht möglich ist.

c) Der Primäreffekt (unspezifisch physiologische Störung).

In unseren Versuchen haben wir im Verhältnis zum Beginn der Behandlung die Fixierung so gewählt, daß die analysierten Diakinesen als ruhende Pollenmutterzellen, höchstens im Übergang von Ruhe zu den frühesten meiotischen Stadien mit dem mutagenen Agens erstmals in Berührung kamen. Wohl in erster Linie durch diese Art der Versuchsanstellung ist beim Röntgenversuch mit seiner kurzen Strahlenexposition der Pflanzen ein Primäreffekt kaum nachweisbar. Meist eng lokal begrenzte Verklebungen zwischen Chromosomen verschiedener Bivalente in Diakinese und Metaphase, sowie fein ausgezogene Brücken zwischen



a b

Abb. 6a u. b. Chromatidrekombination zwischen 2 Schenkeln eines Chromosoms mit gleichzeitiger Verzerrung des Centromers. a Zeichnung, b Schema. 150 r, 2 Tage nach Bestrahlung. Vergr.: etwa 3000mal.

den auseinanderweichenden Endbindungen in der Anaphase als Ausdruck einer erschwerten oder verspäteten Lösung der Endbindungen sind praktisch die einzigen Bilder dieser großen Gruppe von Anomalien.

Bei den Zephirolversuchen sollten dagegen die unspezifisch-physiologischen Störungen weit stärker ausgeprägt sein, denn die mutagene Substanz konnte 3 bzw. 6 Tage lang mit dem Transpirationsstrom aufsteigen und auf den gesamten Ablauf der Meiosis einwirken. Tatsächlich ist dies aber nicht der Fall, und wir finden nicht mehr an Anomalien dieser Art als im Röntgenversuch. Zephirol verhält sich somit dem Äthylurethan + KCl ähnlich, das ebenfalls nur wenig unspezifisch physiologische Störungen auslöst (Oehlkers und Marquardt 1950).

2. Die Häufigkeit der Aberrationstypen.

Oenothera Hookeri ist genetisch und chromosomal unter Freilandbedingungen eine sehr stabile Form. Der spontane Mutationsprozentsatz der Kontrollen liegt

infolgedessen mit 0,67% Zellen mit Chromosomenmutationen verhältnismäßig tief. Wohl im Zusammenhang mit dieser Stabilität wird auch eine Röntgendosis von 150 r und 300 gut vertragen, so daß ein Gesamtaberrationsprozentsatz von 5,75 bzw. 7% ausgelöst wird (Tabelle 1). Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu der von uns früher untersuchten *Paeonia tenuifolia* (OEHLKERS und MARQUARDT 1950), bei der mit 200 r bereits eine sichere Identifikation der Chromosomenmutationen nicht mehr gelingt.

Tabelle 1. *Die Häufigkeit der verschiedenen Aberrationstypen nach Röntgenbestrahlung und Zephiroleinwirkung.*

Versuch	Analysierte Zellen	Fragmentationen			Insgesamt	Rekombinationen			Insgesamt	Aberrationen
		vollständig	lokale Achromasien	Kern-	%	chromat.	chromos. (+lateral)	innerhalb 1 Chromosom	%	%
1. Freiland, Kontrolle . .	600	1	1	—	0,3	2	—	—	0,3	0,67
2. Röntgen 150 r										
nach 2 Tagen	200	—	1	—	0,5	3	2	1	3,0	3,5
nach 4 Tagen	300	4	2	—	2,0	6	4	1	3,7	5,7
nach 6 Tagen	300	5	5	—	3,3	4	7	1	4,0	7,3
Insgesamt	800	9	8	—	2,1	13	13	3	3,6	5,75
3. Röntgen 300 r										
nach 9 Tagen	400	—	5	1	1,5	6	14	2	5,5	7,0
4. Zephirol 0,5%										
nach 3 Tagen	550	—	3	3	1,1	4	1	2	1,3	2,4
nach 6 Tagen	500	—	—	5	1,0	6	—	—	1,2	2,2
Insgesamt	1050	—	3	8	1,05	10	1	2	1,2	2,3

Betrachten wir zunächst das Gesamtergebnis des 150 r-Versuches etwas genauer, so überwiegen die Rekombinationen über die Fragmentationen mit einem Verhältnis von 1:0,8 nicht stark. Während bei der Fixierung 2 Tage nach der Bestrahlung noch kaum Fragmente gefunden werden, steigt ihr Anteil am Gesamtmutationsgeschehen am 4. und 6. Tag stark an. Da unter Freilandbedingungen die Meiosis von *Oenothera* 2—3 Tage in Anspruch nimmt, kann dieser Anstieg aus der größeren Fragmentationsbereitschaft der Ruhekernchromosomen gegenüber dem prophasischen Zustand verstanden werden, wie er in der 2-Tage-Fixierung gefaßt wurde. An diesem Anstieg der Fragmente in steigendem Fixierungsabstand von der Bestrahlung nehmen nicht nur die vollständigen Fragmentationen teil, sondern auch ihre Vorstufen, die lokalen Achromasien. Kernachromasien fehlen dagegen in der gesamten 150 r-Versuchsserie.

Im Gesamtergebnis sind unter den Rekombinationen gleich viel chromosomale wie chromatidale Translokationen vorhanden. In den einzelnen Fixierungen in steigendem Abstand von der Bestrahlung verschiebt sich — trotz der niederen Zahlen und dem kritischen Rückschluß auf die wahre Natur der Konfigurationen — deutlich der Schwerpunkt von den anfänglich vorherrschenden chromatidalen zu den chromosomalen Translokationen, deren Anzahl am 6. Tag auf etwa das Doppelte der chromatidalen angestiegen ist. Die Rekombinationen

innerhalb eines Chromosoms sind zu selten erfaßt worden, als daß über ihr Verhalten ähnliche Aussagen möglich wären.

Den Ergebnissen der 6-Tage-Fixierung in der 150 r-Serie entsprechen bei den Rekombinationen auch diejenigen des 300 r-Versuchs, welcher nur nach 9 Tagen fixiert wurde. Es ist dies für unsere Freilandbedingungen — die Temperaturen während der Versuchsdurchführung lagen zwischen 25 und 32° C — der späteste Zeitpunkt, um den prämeiotischen Ruhekern zu treffen, denn bereits bei Fixierungen nach 13 Tagen finden sich Störungen der letzten prämeiotischen Mitose. Bei den Fragmentationen besteht dagegen eine auffällige Diskrepanz, indem ihr Verhältnis zu den Rekombinationen auf 0,3:1 zurückging und vollständige Fragmente ganz fehlen; es sind in erster Linie lokale Achromasien vorhanden und auch 1 Fall einer Kernachromasie mit 2 betroffenen Bivalenten (vgl. Abb. 3a).

Der Gesamtaberrationsprozentsatz im *Zephirolversuch* liegt mit 2,3% zwischen der Kontrolle und dem Röntgenversuch. Da dieser Wert bei 1050 analysierten Zellen über das 3fache die Kontrolle übersteigt, kann mit Sicherheit ausgesagt werden, daß beim Aufsteigenlassen von 0,5%iger Zephirollösung mit dem Transpirationsstrom genügend Substanz in die Antheren und Pollenmutterzellen gelangt, um eine chromosomenmutationsauslösende Wirkung der Invertseife zu beweisen.

An diesem Gesamtwert sind die Fragmentationen und Rekombinationen im Verhältnis von 1:1 beteiligt. Für die Verhältnisse bei den Fragmentationen ist charakteristisch, daß vollständige Fragmentationen fehlen und nur ihre Vorstufen, die Achromasien, auftreten, wobei die Kernachromasien besonders häufig sind. Unter den Rekombinationen scheinen in beiden Fixierungen die chromatidalen Translokationen den chromosomalen gegenüber vorzuherrschen; auch die 2 Rekombinationen innerhalb eines Chromosoms sind chromatidaler Natur.

Im Gegensatz zu den Röntgenversuchen ergibt sich beim Vergleich der 3- und 6-Tage-Fixierungen in der Zephirolserie, daß weder in der Gesamtzahl von Fragmentationen und Rekombinationen noch in ihren Untergruppen wesentliche Verschiedenheiten nachgewiesen werden können.

3. Die Verteilung der Brüche auf die eu- und heterochromatischen Segmente der Chromosomen.

Bei den von Oehlkers und Mitarbeitern untersuchten *Oenothera*-Bastarden mit je einem Viererring ist eine Untersuchung der Verteilung von Brüchen über die Chromosomen des Genoms insoweit möglich, als die Brüche in den Viererringchromosomen denjenigen innerhalb von Bivalenten gegenübergestellt werden können. Bei *Oenothera Hookeri* mit 7 Bivalenten ist eine solche oder andere Gruppierung nicht möglich, denn die zwar vorhandenen Größenunterschiede der meiotischen Bivalente reichen nicht aus, um mit ausreichender Sicherheit die Bruchverteilung auf die 3 vorhandenen Größenklassen (Marquardt 1937) vorzunehmen.

Die einzelnen *Oenothera*-Chromosomen, unabhängig von ihrer Individualität sind aber einheitlich untergegliedert in 2 euchromatische Endsegmente und ein

Tabelle 2. *Die Lokalisation der Fragmentations- und Chromatidtranslokationsbrüche auf den einzelnen Chromosomen von Oenothera Hookeri.*

Versuch und Bruch-Art	Eu-chromatin	Hetero-chromatin	Grenz-bereich Eu/Hetero	Centromer	Insgesamt
a) Röntgen					
Fragmentation	1	2	4	12	19
Rekombination	4	3	7	5	19
b) Zephirol					
Fragmentation	0	0	1	3	4
Rekombination	0	3	2	3	8

heterochromatisches Mittelstück verschiedener Ausdehnung. Es ist daher fast in allen Fällen möglich, eine Fragmentation bzw. Achromasie jeweils einem der genannten Segmente zuzuordnen. Von den Rekombinationen eignen sich für eine derartige Bruchlokalisation nur die Chromatidtranslokationen. Es muß allerdings der Vorbehalt gemacht werden, daß der Ort der Chromatidüberkreuzung in der Diakinese nicht in allen Fällen der Translokationsort sein muß; das Vorhandensein von Multivalentkonfigurationen, deren Chromosomen nur mit Endbindungen zusammenhängen (vgl. Abb. 6), deutet darauf hin, daß ein Terminalisieren, d. h. ein Ans-Ende-Rücken der Überkreuzungen nicht ausgeschlossen ist.

Die Zusammenstellung der sicheren Lokalisationen von Fragmentbrüchen in Tabelle 2 zeigt, daß im Röntgenversuch die Centromerregion am meisten betroffen ist und zwar weniger von vollständigen Fragmentationen als vielmehr von lokalen Achromasien. Dieser Befund entspricht der Erwartung, denn in weniger stark kontrahierten Zuständen — in der mitotischen Prophase und dem meiotischen Pachytän — ist die Centromerregion charakterisiert durch eine etwas blassere Färbung des sie unmittelbar umgebenden Chromatins. Unter dem Einfluß der Röntgenstrahlen kann sich eine Lockerung im Längszusammenhang des Chromosoms daher vorwiegend an diesem Locus minoris resistentiae bemerkbar machen und so die Häufung lokaler Achromasien bewirken.

Auffälliger als dieses Ergebnis ist dagegen eine zweite Häufung von Fragmenten bzw. Achromasien an den Nahtstellen zwischen Eu- und Heterochromatin, die ebenso bei den Chromatidtranslokationen eine Prädilektionsstelle für Überkreuzungen darstellt. Von beiden Chromosomenmutationen deutlich weniger betroffen ist dagegen die Länge der eu- und heterochromatischen Segmente; leider reichen die Zahlen noch nicht aus, um genaue Feststellungen über das Verhältnis der Bruchbereitschaft dieser Zonen aus verschiedenen Chromatinsorten zu treffen.

Auch die Zahlen aus dem Zephirolversuch sind zu gering, um jetzt schon Gleichheit oder Verschiedenartigkeit gegenüber den Röntgenstrahlen bindend feststellen zu können; soweit sie eine Beurteilung zulassen, scheint eine weitgehend ähnliche Bruchverteilung wie dort vorzuliegen.

Zusammenfassend folgt aber doch bereits aus dem hier vorgelegten Zahlenmaterial, daß die Brüche auf die verschiedenen Regionen der *Oenothera*-Chromosomen *nicht* gleichmäßig verteilt sind, sondern nach Röntgenbestrahlung an 2 markierten Stellen, in der Centromerregion und wahrscheinlich auch an der Nahtstelle von Eu- und Heterochromatin gehäuft vorkommen.

4. Die Zahl der Endbindungen.

In der Diakinese von *Oenothera Hookeri* sind die Chiasmen praktisch alle terminalisiert, so daß an Stelle ihrer Häufigkeit nur noch die Zahl zustande gekommener Endbindungen festgestellt werden kann, mit denen die homologen Chromosomenenden untereinander verbunden sind. Unter Freilandbedingungen sind fast alle Endbindungen der Diakinesechromosomen realisiert, indem von 14 möglichen Endbindungen durchschnittlich 13,91 Bindungen je Zelle gezählt werden.

Stellen wir diesem Kontrollwert unsere Versuche gegenüber (Tabelle 3), so fällt zunächst der geringe Einfluß der gewählten mutagenen Agenzien auf die

Tabelle 3. *Die Zahl der Endbindungen in der Diakinese von Oenothera Hookeri nach Röntgenbestrahlung und Zephiroleinwirkung.*

Versuch		Zahl der Endbindungen					Durchschnittliche Zahl der Endbindungen
		14	13	12	11	10	
Kontrolle	600	551	48	1	—	—	13,91
Röntgen 150 r							
nach 2 Tagen.	200	180	17	3	—	—	13,89
nach 4 Tagen.	300	271	27	2	—	—	13,89
nach 6 Tagen.	400	375	24	—	—	—	13,93
Insgesamt	900	826	68	6	—	—	13,91
Röntgen 300 r							
nach 9 Tagen.	400	351	44	5	—	—	13,84
Zephirol 0,5%							
nach 3 Tagen.	550	467	77	5	—	1	13,83
nach 6 Tagen.	500	454	43	3	—	—	13,90
Insgesamt	1050	921	120	8	—	1	13,87

Zahl der Endbindungen auf. Tatsächlich ist bei den Röntgenversuchen weder das Gesamtergebnis des 150 r- und 300 r-Versuchs noch eine Einzelfixierung davon statistisch verschieden von der Kontrolle.

Etwas anders liegen die Verhältnisse beim Zephirolversuch. Hier ist die Endbindungszahl 13,83 je Zelle in der 3-Tage-Fixierung statistisch bedeutsam unter den Kontrollwert gesunken, während nach 6 Tagen der Normalwert wieder erreicht wird. Die Zahl der Endbindungen bei *Oenothera Hookeri* wird somit nicht gleichsinnig der Zahl ausgelöster Chromosomenmutationen verändert, da die wirkungsvollere Röntgenbestrahlung in keiner Fixierung eine Depression der Endbindungshäufigkeit hervorrief.

Bei der Beurteilung dieses Ergebnisses ist aber wesentlich, daß die Zahl der Endbindungen nur einen ungenauen Rückschluß auf die sie verursachende Chiasmafrequenz erlaubt; wenn nämlich nur ein oder zwei Chiasmen zur Realisierung einer Endbindung genügen, im Diplotän je Chromosomenschenkel aber eine größere Zahl von Chiasmen gebildet wird, dann braucht sich eine Herabsetzung der Chiasmahäufigkeit um etwa 1 Chiasma je Schenkel in der Zahl der Endbindungen nicht zu manifestieren. Eine derartige Möglichkeit scheint nicht von der Hand zu weisen sein, denn wir haben bei *Vicia faba*, einem Objekt mit nicht

oder nur unbedeutend terminalisierenden Chiasmen, nach Röntgenbestrahlung eine statistisch gesicherte Abnahme der Chiasmafrequenz gefunden (MARQUARDT, im Druck).

Diskussion der Ergebnisse.

1. Die biologische Wirkung der Invertseifen.

Die Reaktionen von Organismen und Zellen auf Invertseifen, denen das Zephirol zugehört, sind unter verschiedenen Gesichtspunkten untersucht worden. KUHN und BIELIG (1940) stellten ihre bakterizide und hämolytische Eigenschaft fest. Ihre antimitotischen Wirkungen sind an Gewebekulturen von Hühnerherzfibroblasten durch MEIER und SCHÄR (1947) geprüft worden, wonach eine Konzentration von 10^{-4} dieser Substanzen bereits toxisch unter starker Vakuolisation des Zytoplasmas wirkt, während bei 10^{-8} die Schwellendosis für Mitosestörungen liegt. Als karyologische Anomalien sind von den Autoren colchicinähnliche Teilungsstörungen und Ausstoßung von zum Teil Chromosomenmaterial enthaltenden kleinen Zytoplasmapartikeln beschrieben worden. Bereits vorher hatten LUSTIG und WERBER (1936) bei Triäthyl-dodecyl-ammoniumbromid und Triphenyl-Tetrazoliumchlorid, ebenfalls Substanzen von Invertseifencharakter, antimitotische Wirkungen an Krebsgewebe festgestellt.

Mutationsauslösung von Invertseifen ist bisher nur an niederen Organismen beschrieben worden. MOEWUS (1940) erhielt bei Einwirkung von 1 Dodecyl-Triäthyl-benz-triazoliumbromid unter 43700 M^1 Diözisten von *Chlamydomonas* 2, von Dimethyl-dodecyl-benzyl-ammoniumbromid unter 20000 M^2 Diözisten 3 Mutationen nach $M_D{}^{abs}$, welche gleichzeitig eine herabgesetzte Vitalität besaßen. DEMEREC (1949) erwähnt in der Liste der Substanzen, die bei *Escherichia coli* resistente Mutanten gegen den T_1-Bakteriophagen auszulösen vermögen, ebenfalls das Zephirol. Sowohl bei *Chlamydomonas* wie bei *Escherichia coli* sind aber diese Befunde nur summarisch ohne jede Konzentrationsangabe mitgeteilt.

Unsere eigenen Ergebnisse ergänzen daher die bisher vorliegenden Erfahrungen mit Invertseifen insofern, als sie auch bei höheren Pflanzen eine chromosomenmutationsauslösende Wirkung sicherstellen. Unseres Wissens ist dies somit der erste Fall, daß eine in der Praxis als Desinfektionsmittel verwendete bakterizide Substanz sowohl an den Chromosomen höherer Pflanzen wie an den gentragenden Strukturen von niederen Organismen mutagen wirkt.

Als Ursache für diese mannigfaltigen biologischen Wirkungen der Invertseifen kommt zunächst ihre allgemeine chemische Struktur in Betracht; es reagiert die basische Gruppe mit den sauren Gruppen etwa der hochmolekularen Eiweiße und Nukleinsäuren des Protoplasten. An den Reaktionsstellen sind diese Moleküle dann von einem hydrophoben Mantel aus Invertseifen umgeben, und ihre normale Reaktionsweise im Stoffwechselgeschehen aufs schwerste alteriert.

Über diese recht allgemein gehaltenen Feststellungen hinaus gelang KUHN und BIELIG (1940) der Nachweis, daß an Eiweißen eine spezielle Einwirkung auf die SH-Gruppen erfolgt. Damit ordnen sich die Invertseifen den „substances thioloprives" von BACQ (1946) ein, denen unter den bisher nachgewiesenen mutagenen Substanzen auch die Derivate des Senfgases zugehören. — Ferner vermuten BECK und MEIER (1947) auf Grund der Parallelität zwischen der Reaktion von Invertseifen + Lezithin einerseits und Invertseifen + Erythrozyten

andererseits, daß ein Teil ihrer biologischen Wirkung auf ihrer Reaktionsfähigkeit mit Zellipoiden beruht.

2. Invertseifen-Wirkung und die Frage nach der Entstehung von Chromosomenmutationen.

Unter den bisher bekannt gewordenen Reaktionen der Invertseifen vor allem mit Eiweißen ist ihre Affinität zu den Sulfhydrylgruppen in zweierlei Hinsicht von Bedeutung: Für eine andere bakterizide Substanz, das 2-Methyl-1-4-Naphtochinon konnten Colwell und McCall (1946, zit. nach Clark, Wyss und Stone 1950) die antibakterielle und fungizide Wirkung mit einer Blockierung der SH-Gruppen der Fermentproteine oder anderer wachstumsnotwendiger Substanzen in Zusammenhang bringen; ebenso beruht die antibakterielle Wirkung des Quecksilbers und seiner Salze mindestens zum Teil auf demselben biochemischen Vorgang (Fildes 1940, zit. nach Clark u. a., l. c.). Der charakteristische Effekt bakterizider Substanzen scheint daher eng mit einer vorhandenen Affinität zu SH-Gruppen der Zellproteine in Zusammenhang zu stehen.

Außerdem ist für 3 Substanzen, die eine spezifische Reaktionsbereitschaft mit Sulfhydrylgruppen besitzen (Substances thioloprives nach Bacq 1946), auch eine mutationsauslösende Wirkung festgestellt worden: Für Senfgas und seine Derivate ist von Auerbach (Zusammenfassung der bisherigen Untersuchungen in Auerbach 1949) mit Hilfe der geschlechtsgebundenen Letalmutationen bei *Drosophila*, für 2-Methyl-1-4-Naphtochinon von Clark, Wyss und Stone (1950) mit Hilfe der Resistenzmutationen bei *Micrococcus pyogenes* und für Zephirol von Moewus (1940), Demerec (1949) und uns der Nachweis geführt.

Es liegt daher der Gedanke nahe, in der SH-Gruppenblockierung von Proteinen des Zytoplasmas und Zellkerns eine wesentliche Voraussetzung der mutagenen Wirkung eines Agens zu sehen, jedoch nicht in einem solchen Maße, daß jeder „substance thioloprive" auch mutagene Eigenschaften zukommen müßten. Vor einer solchen Überschätzung dieses Zusammenhangs bewahren uns einerseits die Ergebnisse an *Micrococcus aureus*, bei dem die Quecksilberverbindungen trotz ihrer SH-Affinität keine Mutationen auslösten (Clark, Wyss und Stone 1950), andererseits die Experimente Auerbachs (1950a), welche mit Chloropikrin, einer besonders mit den Sulfhydrylgruppen reaktionsbereiten Substanz bei *Drosophila* ebenfalls keine geschlechtsgebunden-letalen Mutationen erhielt.

Diese verschiedenen Ergebnisse lassen sich wohl aus der Unbestimmtheit der Aussage „Blockierung der SH-Gruppen von Zellproteinen" verstehen, denn in der Zelle sind sowohl im Zytoplasma wie im Zellkern zahlreiche verschiedene SH-Gruppen führende Proteine und Fermentproteine vorhanden. Für den Mechanismus der Mutationsauslösung wird aber nicht nur entscheidend sein, daß überhaupt SH-Gruppen in der Zelle verändert werden, sondern an welchen Proteinen und in welchem Umfang die Blockierung vor sich geht; Verschiedenheiten in dieser Hinsicht werden daher in der Zelle bald zum Tod durch irreparable Störung ihres Lebensgetriebes, bald zu Mutationen im Zellkern, bald zu reversiblen Alterationen des Zellstoffwechsels führen.

Wenn somit auch zur Klärung des Zusammenhangs von SH-Gruppenblokkierung einerseits und Mutationsauslösung andererseits eine weitere biochemische

Charakterisierung der sich abspielenden Prozesse notwendig ist, bleibt dennoch die Tatsache von Bedeutung, daß die Alteration der SH-Gruppen in Fermentproteinen eine tiefgreifende Änderung der enzymatischen Funktion und ihrer Aktivität mit sich bringt, die sich in pathologischen Abläufen des Zellstoffwechsels manifestiert. Es ist aber gerade eine Eigenart aller mutagener Agenzien, solche nachhaltigen Veränderungen im Stoffwechsel der Zelle zu bewirken, denn in keinem Falle — auch nicht bei kurzwelligen Strahlen — konnte eine Beschränkung der Wirkung des Agens auf den Zellkern und die Chromosomen ohne Einbeziehung auch des Zytoplasmas und seiner Funktionen nachgewiesen werden. So zeigt sich bereits bei *in vitro*-Versuchen mit Fermenten, daß der erste Angriff kurzwelliger Strahlen wieder an den SH-Gruppen ihrer Proteine einsetzt (BARRON, DICKMANN, MUNTZ und SINGER 1949, zit. nach CLARK u. a. 1950).

Ausdruck dieser induzierten schweren Schädigungen im Gesamtstoffwechsel der Zelle ist die hohe Toxizität derjenigen Dosen aller Agenzien, die eine ausreichende Zahl von Mutationen auslösen. Sie tritt in den Experimenten bald als antibiotische (bakterizide, fungizide) bald als zelltoxische Wirkung auf und ist vor allem in den Mutationsversuchen an *Neurospora* deutlich geworden: Hier werden Sporensuspensionen mit mutagenen Agenzien behandelt und als Test die Zahl der biochemischen Mutationen bestimmt. Mutagene Chemikalien töten in den Konzentrationen mit dem höchsten Mutationsprozentsatz 60—90% der behandelten Sporen ab (vgl. die Zahlen in DICKEY, CLELAND und LOTZ 1949 und MCELROY und DE LA HABA 1949); die kurzwelligen Strahlen haben mit 30—40% abgetöteten Sporen dagegen eine etwas geringere toxische Wirkung.

Diese Differenz in der Toxizität von mutagenen Chemikalien und kurzwelligen Strahlen besteht jedoch bei den höheren Organismen nicht. So sind in den *Drosophila*-Versuchen Unterschiede in der Zahl der Dominant-Letalen (Anzahl der nichtschlüpfenden, befruchteten Eier) zwischen Senfgas und Röntgenstrahlen nicht aufgetreten (vgl. AUERBACH 1950b) und bei unserer Versuchspflanze, der *Oenothera Hookeri*, beträgt die Zahl nichtkeimender Samen aus bestrahlten Pollenkörnern und unbehandelten Eizellen bei der nicht hohen Dosis von 1500 r 60,1%, bei 2500 r 82,9% (RUDLOFF und STUBBE 1934/35).

Zephirol mit seiner bakteriziden und antimitotischen Wirkung zeigt dieselbe enge Korrelation von Toxizität und mutagener Eigenschaft, die allen mutationsauslösenden Agenzien eigen ist. Aus diesem nach unserer Meinung bisher zu wenig in den Vordergrund gestellten Gesichtspunkt lassen sich aber 2 Schlußfolgerungen ziehen:

1. Mutagene Wirkung auf Chromosomen und Chromosomenloci tritt nur dann ein, wenn bei der Behandlung mit dem Agens so schwere Zellschädigungen gesetzt werden, daß der größere Teil der Zellen die Behandlung nicht überlebt.

2. Mutagene Wirkung ist in allen bisher nachgeprüften Fällen von tiefgreifenden Störungen des Stoffwechsels im gesamten Protoplasten begleitet; die Blockierung von SH-Gruppen ist dabei ein bei mehreren mutagenen Agenzien bereits identifiziertes Teilphänomen.

Die vorliegenden Befunde reichen aber für die Beantwortung der dabei sich erhebenden Frage noch nicht aus; ob bei ausreichender Toxizität eines Agens

stets dabei Mutationen entstehen — mit anderen Worten, *ob Mutationsauslösung der Ausdruck einer subletalen Schädigung einer teilungsfähigen Zelle ist.* An dieser Stelle spielt die Verschiedenheit des Objektes und der Methode, mit welcher die Mutationsauslösung festgestellt wird, eine Rolle, denn nach unserer Definition der Mutationen als bleibende Änderungen in der erbtragenden mikroskopischen, submikroskopischen oder eventuell sogar molekularen Struktur der Chromosomen kann dieses Geschehen direkt im Anschluß an die Behandlung (direkte Methode) oder nach einem Entwicklungsablauf zytologisch (indirekte Methode) oder durch Kreuzungsanalyse (genetische Methode) gefaßt werden (Marquardt 1950). So ist beispielsweise in den erwähnten Untersuchungen an *Neurospora*, wo die genetische Methode — Feststellung von biochemischen Mutationen — Anwendung gefunden hat, Phenol zwar als hochtoxisch, jedoch nicht als mutagen beschrieben. Ebenfalls mit genetischer Methode erwies sich diese Substanz aber an *Drosophila* mutationsauslösend (Hadorn, Rosin und Bertani 1949), und Levan und Tjio (1948) fanden mit der direkten Methode an *Allium cepa* typische Chromosomenmutationen nach Phenolbehandlung.

Fassen wir daher unsere Überlegungen über die Bedeutung des Zephirols und der anderen, bisher bekannt gewordenen und eingehender biochemisch in ihrer Wirkung analysierten mutagenen Agenzien für das Problem des Mechanismus der Mutationsentstehung zusammen, so resultiert eine eher negative als positive Aussage: Die Korrelation von mutationsauslösender und hochtoxischer Wirkung der Agenzien zeigt eine *komplexe* Störung der Zellfunktion an, die sich sowohl auf Zellkern wie Zytoplasma erstreckt. Die biochemische Charakterisierung der Substanzen als „substance thioloprive", als freie Radikale auslösend (Haas, Clark, Wyss und Stone 1950) oder ein cross-linking zwischen Protein-Mizellen bewirkend (Loveless und Revell 1949) ist aber viel zu allgemein, um daraus den Mechanismus gerade des Eingriffs am Chromosom zwingend herzuleiten. Die Frage des hieran interessierten Zytogenetikers an den Biochemiker lautet daher, ob es ihm gelingt, seine bisher zu allgemein gehaltenen Formulierungen soweit zu präzisieren, daß einmal über die Lokalisation und den Umfang des Eingriffs an Bestandteilen des Zytoplasmas oder Zellkerns und zum anderen über die biochemischen Konsequenzen aus derartigen Störungen größere Klarheit geschaffen wird.

3. Der Vergleich der Wirkung von Röntgenstrahlen und Zephirol.

Während in einer früheren Untersuchung (Oehlkers und Marquardt 1950) durch die Wahl einer zu hohen Röntgendosis ein Vergleich von Röntgen- und Urethanwirkung auf die meiotischen Chromosomen von *Paeonia* zwar qualitativ aber nicht quantitativ möglich war, stehen hier bei *Oenothera Hookeri* die Röntgen- und Chemikalieneffekte in einem etwas günstigeren Verhältnis zueinander. Da aber die verwendete Zephirolkonzentration verhältnismäßig schwach wirksam war, sind die Zahlen der einzelnen aberranten Konfigurationen nicht sehr hoch, so daß dieser Vergleich mit der notwendigen Vorsicht durchgeführt werden muß.

Zwei Unterschiede der Ergebnisse einer Röntgenstrahlen- und Zephirolbehandlung sind zunächst an unserem Zahlenmaterial sehr deutlich: Vollständige chromosomale Fragmente kommen nur bei der Röntgenbehandlung vor; ferner

stehen die chromatidalen Translokationen bei Zephirol viel stärker im Vordergrund. Es scheint somit diesen Unterschieden eine gemeinsame Ursache zugrunde zu liegen: Ein den ganzen Chromosomenquerschnitt betreffender Bruch wird von Zephirol nur selten, von Röntgenstrahlen dagegen häufig ausgelöst. Die geringere chromosomen-mutationsauslösende Wirkung des Zephirols kann daher zu einem Teil hergeleitet werden aus dieser Unfähigkeit zu so weitgehenden Eingriffen am Chromosom, wie sie Röntgenstrahlen zu vollbringen vermögen.

Unter der Gruppe der Fragmentationen fällt weiterhin das ausschließliche Vorhandensein der Kernachromasien im Chemikalienversuch auf. Dieser Aberrationstyp kann wohl kaum anders als eine den ganzen Kern oder mindestens mehrere Chromosomen betreffende Störung ihrer Desoxyribose-Nukleinsäurebeladung gedeutet werden. Infolgedessen scheint hier ein Hinweis darauf vorzuliegen, daß Störungen im Nukleinsäurestoffwechsel, soweit sie zu dem geschilderten Endzustand führen, von Zephirol in stärkerem Maße ausgelöst werden als von Röntgenstrahlen.

Ein letzter, deutlicher Unterschied betrifft schließlich das Verhalten der Fixierungen in verschiedenem Abstand von dem Behandlungsbeginn: Bei Zephirol bleibt ein Anstieg der Chromosomenmutationen vom 3. zum 6. Tag aus. Dies widerspricht nicht nur den Röntgenexperimenten, sondern auch unseren Erfahrungen mit urethanbehandelten Meiosen von *Paeonia* (MARQUARDT 1949), bei denen in den Fixierungen des 2. und 4. Tages nach Injektion der Lösung der Aberrationsprozentsatz von 3,3% auf 7,1% steigt. Eine befriedigende Interpretation dieses herausfallenden Verhaltens von Zephirol kann auf Grund des vorliegenden Versuchsmaterials wohl nicht gegeben werden, denn die Substanz wurde den Pollenmutterzellen ja auf dem Umweg über den Transpirationsstrom geboten. Es kann daher nicht entschieden werden, ob diese spezielle Versuchsanordnung, die besondere Eigenart des Zephirols oder die durch sie ausgelösten Reaktionen der betroffenen Zellen für das beobachtete Ergebnis verantwortlich sind.

Die in unseren Versuchen zu Tage getretene Eigenart der Zephirolwirkung in unmittelbarem Anschluß an die Behandlung läßt einen Schluß auf Ergebnisse zu, die bei einer Anwendung der genetischen Methode (Herstellung von Folgegenerationen aus behandelten Pollen mit unbehandelten Eizellen) auftreten würden: Unter der Voraussetzung, daß in einem solchen Falle der generative Pollenkern weitgehend den meiotischen Chromosomen ähnlich reagiert, würden im Gegensatz zu einer Röntgenbestrahlung keine oder nur wenige chromosomale Fragmentationen auftreten. Vollständige Fragmente sind aber in den Anaphasen der folgenden Kernteilungen der Pollenschlauch- und Embryomitosen keiner geregelten Bewegung fähig und werden eliminiert. Dadurch entstehen im Kern schwere Chromosomenstückverluste, die in den meisten Fällen zum Tode der betroffenen Zelle führen. Ein Teil der nicht keimungsfähigen Samen beim Röntgenversuch wird somit ihre Bildung dem Vorhandensein derartiger Fragmente verdanken; er wird aber bei einem Zephirolversuch wegfallen, so daß hier die Zahl der nichtkeimenden Samen geringer sein wird, sofern nicht andere Letalphänomene diesen Effekt überdecken.

Ferner würden in Zephirolexperimenten kaum chromosomale, wohl aber chromatidale Translokationen eintreten, also gerade das umgekehrte wie nach Röntgenbestrahlung. Auf Grund unserer eingehenden Überlegungen über das Schicksal der verschiedenen Translokationstypen (Marquardt 1941) folgt aber aus dieser Häufigkeitsdifferenz der chromatidalen und chromosomalen Translokationen, daß in den zur Blüte kommenden F_1-Pflanzen beim Röntgenversuch mehr Translokationen gefunden werden als bei der Zephiroleinwirkung, denn die Wahrscheinlichkeit einer Passage ohne Setzung letaler Effekte ist für chromosomale Translokationen viel größer als für chromatidale, die wesentlich zahlreicher in den Mitosen nach ihrem Zustandekommen ausgeschaltet werden.

Diese Konsequenz für die Translokationen entspricht aber den Befunden, die von Auerbach und Robson (1947) mit Senfgas gemacht wurden, obwohl *Drosophila* einen ganz anders gearteten Entwicklungsgang besitzt als wir ihn hier für unsere Überlegungen an *Oenothera Hookeri* dargelegt haben. Auch bei diesem Objekt treten nach Senfgaseinwirkung auf die Spermien viel weniger, mit genetischer Methode faßbare Translokationen auf als nach Röntgenbestrahlung. Ob diesem Phänomen dieselbe Ursache zugrunde liegt — ein Vorherrschen chromatidaler über chromosomale Rekombinationen — kann bei der weiten Objektverschiedenheit auf Grund theoretischer Überlegungen natürlich nicht entschieden werden; unglücklicherweise sind die *Drosophila*-Chromosomen in den ersten Kernteilungen im Ei so klein, daß hieran noch niemand karyologisch ins einzelne gehende Feststellungen getroffen hat.

Literatur.

Auerbach, Ch.: Chemical mutagenesis. Biol. Rev. **24**, 355 (1949). — SH poisoning and mutation. Experientia **6**, 17 (1950a). — Differences between effects of chemical and physical mutagens. Pubbl. Staz. zool. Napoli Suppl. **22**, 1 (1950b). — Auerbach, Ch., and J. M. Robson: The production of mutations by chemical substances. Proc. roy. Soc. Edinburgh B **62**, 271 (1947). — Bacq, Z. M.: Substances thioloprives. Experientia **2**, 349 (1946). — Beck, G. E., u. R. Meier: Mechanismus der Reaktion von Invertseifen mit isolierten Zellen. Experientia **3**, 371 (1947). — Demerec, M.: Chemical mutagens. Proc. 8. Internat. Congr. Genet., Lund 1949, S. 201. — Dickey, F. A., G. H. Cleland and C. Lotz: The role of organic peroxides in the induction of mutations. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **35**, 581 (1949). Haas, F. L., I. B. Clark, O. Wyss and W. S. Stone: Mutations and mutagenic agents in Bacteria. Amer. Naturalist. **84**, 261 (1950). — Hadorn, E., S. Rosin u. G. Bertani: Ergebnisse der Mutationsversuche mit chemischer Behandlung von *Drosophila*-Ovarien in vitro. Proc. 8. Internat. Congr. Gen., Lund 1949. — Kuhn, R., u. G. Bielig: Über Invertseifen. I—VI. Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 1080, 1092, 1095, 1100, 1105, 1109 (1940). — Levan, A., and I. H. Tjio: Induction of Chromosome fragmentation by phenols. Hereditas (Lund) **34**, 453 (1948). — Loveless, A., and St. Revell: New evidence on the mode of action of „mitotic poisons". Nature (Lond.) **164**, 938 (1949). — Lustig, B. u. E. Werber: Z. f. Krebsforschg **43**, 364 (1936). — Marquardt, H.: Die Meiosis von *Oenothera*. I. Z. Zellforschg **27**, 159 (1937). Über Bau, Häufigkeit und Auswirkungen der spontanen Translokationen. Flora (Jena) **35**, 239 (1941). — Das Verhalten röntgeninduzierter Viererringe mit großen interstitiellen Segmenten bei *Oenothera Hookeri*. Z. Vererbungslehre **82**, 415 (1948). — Quantitative Auswertung eines Versuches zur Auslösung von Chromosomenmutationen durch ein Äthylurethan-Kaliumchloridgemisch. Experientia **5**, 443 (1949). — Neuere Auffassungen über einige Probleme aus der Pathologie der Kernteilung. Naturwiss. **37**, 416, 433 (1950). —

McElroy, W. D., and H. de la Haba: Effect of pressure on induction of mutations by nitrogen mustard. Science (Lancaster, Pa.) **110**, 640 (1949). — Meier, R., u. B. Schär: Differentiation de l'action antimitotique sur la cellule animale normale, in vitro. Experientia **3**, 358 (1947). — Moewus, F.: Über Mutationen der Sexualgene bei *Chlamydomonas*. Biol. Zbl. **60**, 397 (1940). — Oehlkers, F.: Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. Biol. Zbl. **65**, 176 (1946). — Oehlkers, F., u. G. Linnert: Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 136 (1949). — Oehlkers, F., u. H. Marquardt: Die Auslösung von Chromosomenveränderungen durch Injektion wirksamer Substanzen in die Knospen von *Paeonia tenuifolia*. Z. Vererbungslehre **83**, 299 (1950). — Rudloff, C. F., u. H. Stubbe: Mutationsversuche mit *Oenothera Hookeri*. Flora (Jena) **129**, 347 (1934/35).

Prof. Dr. Dr. Hans Marquardt, Forstbotanische Abteilung
der Universität Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9/11.

Autorenverzeichnis des 83. Bandes.

Benl, Gerhard, Über ein pleiotropes, labiles Gen bei *Petunia* nyctaginiflora. S. 86.

Bogen, Hans J., Permeabilitäts-Untersuchungen an polyploiden Zellen. S. 93.

Boost, Charlotte, s. Ludwig, Wilhelm. S. 383.

Graber, Hans, Genetische, entwicklungsphysiologische und morphogenetische Untersuchungen an der Mutante „*spermatheca*“ *(spt)* von *Drosophila melanogaster*. S. 106.

Harte, Cornelia, Differenzen in der Keimungsgeschwindigkeit zwischen genetisch verschiedenen Pflanzen in Bastardnachkommenschaften. S. 26.

— Dominanzwechsel bei *Oenothera* als genetisches und entwicklungsphysiologisches Problem. S. 318.

— Untersuchungen über labile Gene. I. Mitteilung. S. 392.

Hoffmann, Walther, Untersuchungen über Kopplungen bei *Antirrhinum*. IX. Mitteilung. In einigen Artkreuzungen. S. 165.

Kaplan, Reinhard Walter, Chromosomenmutationen als Ursache der Sterilitätseffekte nach Röntgenbestrahlung von Gerstenkörnern. S. 203.

— Chromosomen- und Faktormutationsraten in Gerstenkörnern bei verschiedenartigen Quellungsbehandlungen oder Kälte während oder nach der Röntgenbestrahlung sowie bei Dosisfraktionierung. S. 347.

Kramer, Gustav, Über Inselmelanismus bei Eidechsen. S. 157.

Linnert, Gertrud, Die Bestimmung des Zeitpunktes für das Auftreten von Chromosomenmutationen in der Meiosis von Oenothera nach experimenteller Einwirkung. S. 414.

— Die Einwirkung von Chemikalien auf die Meiosis. S. 422.

— s. Oehlkers, Friedrich. S. 136 und 429.

— s. Oehlkers, F., und L. Stange. S. 479.

Ludwig, Wilhelm, und Charlotte Boost, Über Beziehungen zwischen Elternalter, Wurfgröße und Geschlechtsverhältnis bei Hunden. S. 383.

Maly, Roland, Cytomorphologische Studien an strahleninduzierten, konstant abweichenden Plastidenformen bei Farnprothallien. S. 447.

Marquardt, Hans, Die Auslösung von Chromosomenmutationen durch Röntgenstrahlen und durch die Invertseife Zephirol in der Meiosis von *Oenothera Hookeri*. S. 513.

— s. Oehlkers, Friedrich. S. 299.

Mechelke, F., Trisomie und eine dritte meiotische Teilung bei *Antirrhinum Majus* L. S. 439.

— Ein Fall natürlicher Triploidie und vereinzelter Ringchromosomenbildung bei *Hordeum spontaneum* Koch. S. 442.

Michaelis, Peter, Über Abänderungen des plasmatischen Erbgutes. S. 36.

Oehlkers, Friedrich, und Gertrud Linnert, Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. S. 136.

— — Weitere Untersuchungen über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. S. 429.

— — und L. Stange, Die Häufigkeit experimentell durch Röntgenstrahlen und Chemikalien induzierter Chromosomenumbauten auf den unterscheidbaren Anteilen der Oenotheren-Genome in der Meiosis. S. 479.

— und Hans Marquardt, Die Auslösung von Chromosomenveränderungen durch Injektion wirksamer Substanzen in die Knospen von *Paeonia tenuifolia*. S. 299.

Renner, Otto, Die 15-chromosomigen Mutanten der *Oenothera Lamarckiana* und ihrer Verwandten. S. 1.

Schmid, Werner, Analyse der letalen Wirkung des Faktors *lme (letal-meander)* von *Drosophila melanogaster*. S. 220.

Stange, Luise, Untersuchungen über den Einfluß von Begleitfaktoren auf die mutationsauslösende Wirkung der Röntgenstrahlen. S. 485.

— s. Oehlkers, F., und G. Linnert. S. 479.

Vogt, Marguerite, Analyse durch Äthylurethan bei *Drosophila* induzierter Mutationen. S. 324.

Vogt, Marguerite, Ergänzende Befunde zur mutagenen Wirkung der Urethane (Carbaminsäureester) bei *Drosophila*. S. 341.

Wolfram, Rosemarie, Über die Histogenese der Exkretpigmente bei verschiedenen Rassen von *Ptychopoda seriata* Schrk. und *Ephestia kühniella* Z. S. 254.

Band 83 **Inhalt** 5. (Schluß-)Heft

Seite

Maly, Roland, Cytomorphologische Studien an strahleninduzierten, konstant abweichenden Plastidenformen bei Farnprothallien. Mit 49 Textabbildungen . . 447

Oehlkers, F., G. Linnert und L. Stange, Die Häufigkeit experimentell durch Röntgenstrahlen und Chemikalien induzierter Chromosomenumbauten auf den unterscheidbaren Anteilen der Oenotheren-Genome in der Meiosis 479

Stange, Luise, Untersuchungen über den Einfluß von Begleitfaktoren auf die mutationsauslösende Wirkung der Röntgenstrahlen. Mit 9 Textabbildungen . . 485

Marquardt, Hans, Die Auslösung von Chromosomenmutationen durch Röntgenstrahlen und durch die Invertseife Zephirol in der Meiosis von *Oenothera Hookeri*. Mit 6 Textabbildungen 513

Autorenverzeichnis 531

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aufnahmebedingungen.

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt Korrekturkosten nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskripte sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z. B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z. B.: Sax, K., Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. Genetics 32, 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.

Körperbau und Charakter

Untersuchungen zum Konstitutionsproblem und zur Lehre von den Temperamenten

Von

Dr. Dr. h. c. **Ernst Kretschmer**

ord. Professor für Psychiatrie und Neurologie in Tübingen

Zwanzigste, wesentlich verbesserte und vermehrte Auflage.

Mit 71 Abbildungen. XI, 349 Seiten. 1951.

Ganzleinen DMark 24.—

Dieses in zwanzigster Auflage erscheinende Standardwerk ist einer gründlichen Bearbeitung unterzogen, um die außerordentlich zahlreichen Forschungsergebnisse der letzten Jahre auszuwerten.

Das Buch wurde vor Jahren begonnen in den bewährten Traditionen der klinischen Medizin, auf der psychischen Seite mit den lebendigen wörtlichen Originalprotokollen, die gesunde und erkrankte Menschen und ihre Familien von sich selbst gaben und mit dem einfühlenden Verstehen der inneren Wesenszusammenhänge.

Daß zuerst einmal lebendige Menschenbilder in ihrer vollen Plastik hingestellt wurden — nur dies hat zunächst den Forschungsweg aufgezeigt: wo überhaupt die Ansätze für eine fruchtbare experimentelle und statistische Arbeit zu finden sind — und nur dieses Zeigen der Zusammenhänge im Lebendigen hat dem Buch von Anfang an die Stoßkraft und die Evidenz gegeben, die eine große internationale Mitarbeiterschaft in Gang gesetzt und das riesige empirische Material von heute über 65000 gut durchgearbeiteten Fällen als breites und sicheres Fundament dieses Forschungswerkes zutage gefördert hat.

Es hat sich gezeigt, daß eine zunächst im konkret Empirischen begonnene Arbeit, wenn sie nur mit Ernst und Gründlichkeit betrieben wird, schrittweise bis dorthin vorgetrieben werden kann, wo die mathematische Bearbeitung der Probleme mit Experiment und Statistik in zunehmend klarer Sicht mit präzisen Fragestellungen möglich wird. So entstanden hinter den klinischen Ergebnissen die erb- und sippenstatistischen Untersuchungen und auf der anthropometrischen Seite die konstitutionstypischen Indexberechnungen, ferner die überaus ertragreichen experimentalpsychologischen Forschungsgänge, deren Resultate sich heute schon auf über 7000 Fälle stützen.

In planmäßiger Reihenfolge wurde zuletzt das biologische Zentralproblem „Form und Funktion" experimentell in Angriff genommen, das die physiologische und biochemische Seite der Konstitutionsforschung schrittweise mit der körperlichen Form und dem psychischen Wesen der Persönlichkeit im Ring zusammenschließt. Auch hier hat die Forschung an einem Material von ebenfalls über 7000 exakt bearbeiteten Fällen bereits eine breite und solide Grundlage geschaffen.

Von den laufenden Forschungsarbeiten wurde in die vorliegende Neuauflage eine Reihe neuer Ergebnisse eingebaut wie über Insulinempfindlichkeit, über konstitutionelle Krampfbereitschaft.

Die Forschungsarbeiten von Mall an Konstitutionen und Konstitutionskrankheiten: über acidotische und alkalotische Stoffwechsellagen, über merkwürdige Leukocyten- und Lymphocytenbewegungen und deren gesetzmäßige Zusammenhänge sind teilweise referiert.

Für das experimentalpsychologische Kapitel wurde diesmal eine möglichst vollständige Sammlung und Verarbeitung des reichen Materials an Ergebnissen angestrebt, das bis in die neueste Zeit reicht. Das nahe damit zusammengehörige Kapitel „Konstitution und Leistung" wurde ebenfalls wesentlich ausgebaut.

Am Schluß des Buches wurde ein neues Kapitel über die naturwissenschaftliche und erkenntnistheoretische Seite der Typenforschung angefügt, um den vielfältigen, bis zur Begriffsverwirrung gehenden Unklarheiten hier zu begegnen und andererseits einer Dogmatisierung der Meinungen auf diesem nicht speziell nur für die Konstitutionsforschung, sondern für die Gesamtbiologie zentralen Gebiet vorzubeugen.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin • Göttingen • Heidelberg.
Printed in Germany